

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES

PAR

MAURICE PIETTE

1^{re} Thèse

CONTRIBUTION A L'ETUDE PHYSIOLOGIQUE DU DÉVELOPPEMENT DES HEMATIES ET DE L'APPRÉCIATION DE L'ACTIVITÉ ANTI-ANÉMIE PERNICIEUSE

Soutenue le 29 Mai 1947 devant la Commission d'Examen

MM. Robert LÉVY, *Président*
SCHAEFFER, *Examineurs*
AUBEL



CENTRE DE DOCUMENTATION UNIVERSITAIRE
TOURNIER & CONSTANS
5, Place de la Sorbonne, 5
PARIS-Ve
1948

THESES
présentées à la
FACULTE DES SCIENCES
de l'UNIVERSITE DE PARIS

pour obtenir
le Grade de Docteur-ès-Sciences
par
Maurice PIETTE

~*~*~*~*~*~*~*~*~*

1^e Thèse

CONTRIBUTION A L'ETUDE PHYSIOLOGIQUE DU DEVELOPPEMENT DES HEMATIES ET
DE L'APPRECIATION DE L'ACTIVITE ANTI-ANEMIE PERNICIEUSE

~*~*~*~*~*~*~*~*~*

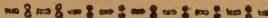
Soutenue le 29 Mai 1947 devant la Commission d'examen

MM. Robert LEVY.....	Président
SCHAEFFER.....	} Examinateurs.
AUBEL.....	

~*~*~*~*~*~*~*~*~*

— 2 —

1



A Monsieur le Professeur Robert LEVY

Professeur à la Faculté des Sciences

Qui me fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse, en témoignage de respectueuse reconnaissance.

A Monsieur le Professeur SCHAEFFER

Professeur à la Faculté des Sciences

Qui après nous avoir accueilli avec bienveillance, s'est intéressé à notre travail et accepte aujourd'hui de l'examiner, hommage de respectueuse gratitude.

A Monsieur le Professeur AUBEL

Professeur à la Faculté des Sciences

Qui après nous avoir témoigné sa sympathie en plusieurs circonstances, a bien voulu faire partie du jury de cette thèse, en témoignage de respect et de reconnaissance.

-:-:-:-:-

A Mon Maître

Monsieur le Professeur FABRE

Doyen de la Faculté de Pharmacie
Membre de l'Académie de Médecine

Hommage de reconnaissance
et de respect.

— 8 — 8 — 8 — 8 — 8 —

INTRODUCTION

C'est en 1942 que notre maître, Monsieur le Professeur FABRE, nous demanda d'étudier le problème des anémies et de nous attacher à la détermination de l'activité des préparations hépatiques et gastriques qui les combattent. A cette époque, l'intérêt des chercheurs semblait de nouveau s'être porté sur ce sujet. La distinction entre les principes responsables de la formation de l'hémoglobine et de la maturation des hématies orientait plutôt l'activité vers le second problème, qui n'avait livré que peu de secrets aux expérimentateurs. Les essais infructueux de l'isolement du principe antipernicieux suscitaient de nouvelles bonnes volontés qui n'étaient pas en quête de succès faciles.

En faisant le point en 1947, nous voyons que les récompenses ne sont pas dans l'ensemble proportionnées aux efforts. Le problème a fait un pas en avant mais il subsiste encore tant de difficultés à résoudre qu'il convient de faire montre de beaucoup de modestie pour en parler. Nous essaierons de ne pas faillir à cette règle de conduite.

Nous avons abordé dans ce travail deux aspects du problème, car l'un et l'autre, menés à la réussite, seraient susceptibles d'amenuiser des difficultés qui ne sont que trop grandes. Le premier consiste à étudier les facteurs physiologiques susceptibles d'intervenir dans la maturation des hématies. C'est là un point de vue qualitatif qui ne possède pas encore à l'heure présente de solution satisfaisante. Il ne forme pas à lui seul un chapitre indépendant car la détermination de l'activité anti-anémie perniciose lui est étroitement reliée. La résolution complète de la question consisterait en la réussite expérimentale de l'immaturation de l'hématie, stabilisant celle-ci à l'état primitif, embryonnaire, et en un dosage précis du principe hépatique qui préside à son développement normal. Les résultats des efforts de nombreuses années se soldent par un échec complet pour la première partie et par des procédés détournés et restreints pour la seconde.

Le travail que nous allons exposer mettra en valeur ces constatations, mais nous pensons qu'il n'aura pas été inutile car il aura permis de fixer expérimentalement certains points relatifs à la limite qualitative de régression de l'hématopoïèse par des régimes carencés. De plus, nous proposerons une méthode d'appréciation de l'activité anti-anémie perniciose destinée à l'étude des diverses parties d'un fractionnement des extraits hépatiques en vue d'isoler le principe antipernicieux.

L'ensemble des résultats de nos recherches sera présenté de la façon suivante :

Dans un premier chapitre, nous rappellerons les différents

stades du développement du globule rouge chez l'adulte par une courte étude de la lignée érythroblastique définitive.

Dans le chapitre II, nous examinerons la lignée embryonnaire ou primitive et ses formes de reviviscence chez l'adulte.

Ces données étant fixées, nous verrons au chapitre III le problème de la maturation de l'hématie ainsi que les hypothèses relatives au mécanisme de son immaturation possible.

Le chapitre IV nous verra développer les techniques de travail ainsi que nos voies d'abord du problème. L'étude de l'influence des sels de plomb sur l'hématopoïèse fera l'objet du chapitre V.

Les quatre chapitres suivants seront consacrés à l'étude des divers facteurs d'origine alimentaire susceptibles d'intervenir dans l'hématopoïèse, à savoir :

Chapitre VI = Acide pantothénique

Chapitre VII = Protides

Chapitre VIII = Protides + acide pantothénique

Chapitre IX = Acide folique

Nous résumerons dans le chapitre X les conclusions relatives à ce travail.

Le chapitre XI comportera les essais d'appréciation de l'activité anti-anémie pernicieuse.

Ayant ainsi abordé ces différentes questions, nous essaierons de tirer, dans un dernier exposé, les quelques conclusions en rapport avec les phénomènes que nous aurons étudiés.

Avant de commencer l'exposé de ce travail, nous voudrions exprimer ici le sentiment de gratitude que nous éprouvons à l'égard de notre Maître, Monsieur le Professeur FABRE. Depuis le jour déjà lointain où il nous a agréé comme interne dans son service, il n'a cessé d'être à nos yeux l'exemple à suivre. Tant dans le domaine de l'activité que dans celui de la discipline scientifique, nous n'avons eu qu'à nous inspirer de l'équilibre réalisé chez lui entre l'esprit créateur et le bon sens. Puissent ces quelques mots être pour lui la traduction de notre indéfectible attachement.

Monsieur le Professeur Robert LEVY nous fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse, Qu'il nous soit permis de l'en remercier et de lui dire quelle heureuse influence a eue sur nous son enseignement.

Nous avons toujours trouvé auprès de Monsieur le Professeur SCHAEFFER, outre beaucoup de bienveillance, des conseils judicieux et des encouragements au cours de périodes difficiles. Nous le prions d'agréer l'expression de notre sincère et respectueuse gratitude.

Monsieur le Professeur AUBEL nous a toujours reçu avec une agissante sympathie. Intéressé par nos recherches, il accepte de nous examiner aujourd'hui. Puissions nous ne pas le décevoir. Qu'il trouve ici l'expression de notre respectueuse reconnaissance.

CHAPITRE PREMIER

LE DEVELOPPEMENT DE L'HEMATIE CHEZ L'ADULTE.

LA LIGNEE ERYTHROBLASTIQUE DEFINITIVE

-:-:-:-:-

Introduction

Les éléments figurés que nous voyons dans le sang de l'individu normal sont des cellules adultes qui ne font que passer dans le "milieu intérieur". Elles naissent et meurent ailleurs. Le problème de la genèse, donc de la naissance, nous intéressant en premier chef dans ce travail, nous allons envisager quelques notions relatives aux étapes de la maturation. Nous les limiterons à la lignée rouge, étant donné que l'ensemble de nos recherches porte sur elle. Nous verrons, au cours des exposés qui vont suivre, quelques faits relatifs aux leucocytes, mais ils ne nécessitent pas pour leur compréhension les quelques précisions que nous avons jugé indispensable de signaler en ce qui concerne la lignée rouge.

A la naissance de l'individu, le système hématopoiétique est constitué définitivement; durant toute la vie, les cellules de la lignée rouge prendront naissance dans la moëlle osseuse, y subiront une série de transformations ayant pour aboutissant l'hématie, seule cellule admise normalement dans le sang circulant. Ce sont les aspects cytologiques au cours de l'évolution des différentes cellules que nous allons brièvement envisager car il nous sera utile au cours de notre travail de savoir reconnaître ceux-ci avec certitude.

Nous ne nous appesantirons pas sur les méthodes de coloration propres à l'hématologiste; disons seulement que l'emploi pratiquement universel de solutions d'éosinate de bleu de méthylène permet aux chercheurs de faire une description qui puisse être interprétée et vérifiée par tous. Nous utilisons, comme tant d'autres, la méthode de coloration dite de May-Grünwald-Giemsa, décrite dans tous les traités classiques.

Les cellules sanguines dérivent toutes d'un élément souche appelé hémocytoblaste qui, à nos yeux du moins, est indifférencié. Il va pouvoir évoluer dans plusieurs directions.

1) Lignée blanche : Il se transformera dans ce cas en la cellule de chaque groupe, soit :

- a) myéloblaste si la cellule finale doit être un granulocyte.
- b) lymphoblaste si la cellule finale doit être un lymphocyte.
- c) monoblaste si la cellule finale doit être un monocyte.
(ce troisième aspect est d'ailleurs encore discuté).

2) Lignée mégacaryocytaire : L'hémocytoblaste évoluera dans ce cas vers la forme dite "mégacaryoblaste", cellule mère d'une lignée dont l'élément final est le thrombocyte ou plaquette sanguine.

3) Lignée rouge : (qui nous retiendra seule ici). La première cellule différenciée de cette lignée est le proérythroblaste.

Paragraphe I - LE PROERYTHROBLASTE

Avant de commencer sa description, nous devons insister sur quelques détails d'ordre terminologique. Pour éviter toute erreur, il conviendrait plutôt de parler de proérythroblaste définitif, pour bien opposer cette cellule à celle que certains auteurs appellent proérythroblaste primordial et qui est en réalité le mégaloblaste, élément propre à la lignée embryonnaire et à l'anémie pernicieuse dite d'Addison-Biermer dont nous reparlerons en détail. De plus, certains traités anciens (Jolly) donnent le nom de mégaloblaste au proérythroblaste définitif. Il faut donc être en garde contre des méprises dont on saisira plus loin l'importance, qui est considérable. Le proérythroblaste ne se rencontre que dans la moëlle osseuse où il est d'ailleurs rare. C'est une grande cellule, de 18 à 22 μ , ronde ou ovalaire. Le noyau, souvent un peu excentré, occupe la plus grande partie de la cellule. Le protoplasme est basophile, bleu cru, avec parfois quelques flammèches incolores. Le noyau à une structure de mosaïque relativement fine : les grains de chromatine irréguliers, violet sombre, sont unis par un fond violet plus clair. Il n'existe pas un contraste absolu, tranché et on ne peut jamais relever un aspect ponctué, caractère essentiel. Les nucléoles sont rares.

Ces caractères positifs étant tracés, il nous resterait à étudier les caractères différentiels. Nous ne le ferons pas une nouvelle fois après les livres classiques de cytologie hématologique. Bornons-nous à dire qu'en dehors des myéloblaste, lymphoblaste, monoblaste et plasmocyte, distinction habituellement aisée, subsiste le mégaloblaste. Il est capital de savoir faire la discrimination; nous y reviendrons, d'ailleurs, en étudiant cette cellule.

Le proérythroblaste va subir ensuite l'évolution classique

de toute cellule sanguine. Cette maturation va consister en une diminution générale de la taille de la cellule avec une réduction plus marquée du noyau. Au point de vue affinité tinctoriale, nous voyons la teinte du protoplasme devenir d'un bleu plus uni et moins accusé. Les zones de décoloration du proérythroblaste, quand elles existaient, disparaissent. Dans le noyau, on voit les masses chromatiniennes commencer à se fusionner et prendre une teinte plus sombre. L'aspect reste celui d'une mosaïque mais le "ciment" diminue d'importance au fur et à mesure de la maturation. On arrive ainsi à l'érythroblaste basophile.

Paragraphe 2 - L'ÉRYTHROBLASTE

Dans sa forme la plus jeune, dite basophile, l'érythroblaste se présente comme une cellule de 8 à 11 μ à noyau central entouré d'une couronne cytoplasmique régulière de 2 à 3 μ , bleu franc mais un peu moins foncée que celle du proérythroblaste. Parfois, on peut noter une zone plus claire périnucléaire. Le noyau rond, de 4 μ environ, présente un aspect craquelé de mosaïque dont la chromatine dense dessine des taches de formes diverses (hexagone, pentagone) de teinte violet soutenu, même noir, sur un fond un peu plus pâle mais encore violacé. Tout l'appareil nucléaire tranche nettement sur le protoplasme.

En dehors du mégaloblaste évolué, que nous verrons plus loin, il est classique d'insister sur les méprises possibles avec certaines formes de petits lymphocytes.

L'évolution de l'érythroblaste basophile va se poursuivre. Le protoplasme va devenir polychromatophile, c'est-à-dire gris bleu et d'intensité atténuée. Le noyau va diminuer encore un peu de volume mais surtout les masses chromatiniennes vont continuer leur condensation, ces transformations aboutissant à l'érythroblaste polychromatophile, cellule de 8 à 9 μ à protoplasme gris bleu, gris ardoisé ou gris verdâtre, à petit noyau noirâtre qui commence à se déjeter.

L'évolution de cette cellule va consister en une charge progressive du cytoplasme en hémoglobine qui va prendre après coloration une teinte rouge, oxyphile, en une réduction continue et une condensation du noyau en une seule masse noirâtre. L'érythroblaste orthochromatique ou normoblaste ainsi formé est une cellule de la taille d'une hématie (7 à 8 μ), ronde ou ovalaire. Le protoplasme est jaune orangé, ou rose, mais de teinte moins accusée que celle de l'hématie mûre. Le noyau, excentré, est minime, entièrement pycnotique, comme une véritable tache d'encre où on peut rarement distinguer une ou deux travées plus claires.

L'évolution de l'érythroblaste orthochromatique vise à la disparition de son noyau et à la substitution complète de l'hémoglobine au protoplasme. Il semble bien qu'il n'y ait pas expulsion en bloc du noyau mais une véritable dissolution précédée d'aspects particuliers (galtère, trèfle). L'affinité tinctoriale varie également : les fragments

nucléaires se colorent d'abord en noir, puis en rouge, puis cessent de se colorer. On peut anormalement saisir certains de ces aspects dégénératifs (corps de Jolly, corps annulaire de Cabot, poussières nucléaires).

Paragraphe 3 - L'HEMATIE

Le remplacement du protoplasme plus ou moins basophile par l'hémoglobine acidophile ne se fait pas d'un seul coup. Les propriétés basophiles persistent à un certain degré pendant cette transformation et on peut parler d'une substance basophile des hématies, substance qui se présente sous trois aspects :

1) Polychromatophilie

Nous l'avons définie un peu plus haut. Disons que pour l'hématologiste, cette preuve de la jeunesse du globule rouge offre le plus grand intérêt. Les aspects de polychromatophilie, stade commun à toute cellule en voie de mûrissement, sont habituels dans les organes hématopoïétiques mais on ne les rencontre dans le sang circulant qu'au cours de fortes régénérations sanguines, chez l'embryon et le nouveau-né. Nous aurons l'occasion d'en parler au cours de ce travail.

2) La substance réticulo-filamenteuse

Elle apparaît tôt dans l'érythroblaste. D'abord granulations périnucléaires, puis réseau de plus en plus dense qui finit par s'atténuer et disparaître. L'hématie réticulo-filamenteuse ou réticulocyte demande, pour être mise en évidence, des colorations vitales. Élément fréquent dans la moëlle osseuse, il est constant dans le sang circulant (5 à 15 % des hématies).

Ce n'est pas au cours de ce simple rappel hématologique que nous ferons comprendre l'importance de l'étude des réticulocytes. Ces notions seront développées plus loin au cours de l'expérimentation qui s'y rapporte.

3) Ponctuations basophiles

Ce sont des grains de taille variable, arrondis ou irréguliers, répandus sur l'aire d'une hématie et teintés en bleu. Ces hématies à ponctuations basophiles ne se rencontrent ni dans le sang ni dans les organes hématopoïétiques de l'individu sain mais parfois au cours d'un certain nombre d'anémies et en particulier dans l'intoxication par le plomb. C'est au cours des anémies saturnines expérimentales que nous en reparlerons.

De l'hématie mûre, nous ne dirons que peu de chose. Appelée encore globule rouge, érythrocyte ou normocyte, c'est une cellule annulée en forme de lentille biconcave, de $7,5\mu$ de taille et chargée

d'hémoglobine acidophile. Nous aurons l'occasion de parler, au cours de ce travail, d'hématies plus petites (microcytes) ou plus grandes (macrocytes), ces derniers ne devant pas être confondus avec les mégaloocytes embryonnaires et de l'anémie d'Addison-Biermer. Nous emploierons également les termes d'anisocytose (hématies de taille différente), de poikilocytose (hématies de formes diverses : raquette, crochet, etc...), d'anisochromie (inégalité de teneur des hématies en hémoglobine se traduisant par des teintes acidophiles plus ou moins accusées).

Telles sont les notions relatives à l'hématopoïèse de l'homme adulte qui sont indispensables à la compréhension de ce travail. Elles nous conduisent à examiner maintenant ce qui se passe chez l'embryon et anormalement chez l'adulte en certains cas. Cet ordre chronologique inversé qui pourrait sembler irrationnel se justifiera très facilement à la lecture de ce que nous allons schématiser au chapitre suivant.

— ♀ — ♀ — ♀ — ♀ — ♀ — ♀ — ♀ — ♀ — ♀ — ♀ — ♀

CHAPITRE II

L'HEMATIE EMBRYONNAIRE - SA REVIVISCENCE CHEZ L'ADULTE -

LA LIGNEE ERYTHROBLASTIQUE PRIMORDIALE OU MEGALOBLASTIQUE

-:-:-:-:-

Introduction

Nous avons vu dans le chapitre précédent que le système hématopoïétique était pratiquement constitué dès la naissance. En fait, il l'est bien avant et chacun sait que la moëlle osseuse commence à remplir ses fonctions dès le quatrième mois de la vie embryonnaire. Avant, entre le troisième et le quatrième mois, les cellules sanguines prennent naissance dans deux organes qui perdent cette fonction par la suite : ce sont le foie et la rate; mais, que se passe-t-il avant le troisième mois ?

Il semble bien que les premières cellules sanguines apparaissent à un stade précoce du développement foetal sous forme de groupes cellulaires situés en dehors de l'embryon, à la périphérie du feuillet mésodermique extra-embryonnaire. Les cellules externes donnent naissance aux vaisseaux et les cellules centrales aux premiers éléments sanguins qui constituent en fait la lignée rouge primordiale. Or, cette lignée est pourvue de caractères cytologiques suffisamment distincts pour qu'on ait pu l'individualiser sous le nom de lignée rouge primordiale ou mégaloblastique, sa première cellule différenciée ayant reçu l'appellation de mégaloblaste.

Paragraphe I - LE MEGALOBLASTE ET LE MEGALOCYTE EMBRYONNAIRES.

Le mégaloblaste est un grand élément de 25μ environ, mais il est des formes géantes (30 à 35μ) et des formes plus petites (15μ). Dans cette cellule arrondie ou ovalaire, le noyau aux nucléoles inconstants et non caractéristiques occupe la majeure partie. Il est un peu excentré et parfois tangent à la périphérie de la cellule par un pôle aplati; il se caractérise de plus par une structure tout-à-fait typique: sa chromatine est finement granitée, réticulée, lâche, condensée en points espacés, donnant un aspect qui tranche nettement sur le fond parfois presque incolore. Le protoplasme est bleu outremer avec parfois quelques tâches blanches diffuses.

Les caractères différentiels du mégalo-blaste embryonnaire et du proérythroblasté définitif ne résident pas dans la taille étant donné la variabilité de cette première cellule; le protoplasme n'est guère plus intéressant. Tout l'examen doit être axé sur la structure nucléaire: le proérythroblasté définitif a une chromatine beaucoup moins fine et surtout beaucoup moins délimitée, moins distincte, qui semble avoir un peu déteint sur le fond plus clair du reste du noyau. L'évolution du mégalo-blaste embryonnaire va être calquée sur celle du proérythroblasté définitif que nous avons vue au chapitre précédent. L'aboutissant sera l'hématie embryonnaire ou mégalo-cyte, grande cellule anucléée de 10 à 12 μ .

Si l'hématologiste ne devait connaître le mégalo-blaste qu'au cours d'études embryologiques, il n'attacherait peut-être pas à cette cellule une importance exceptionnelle; mais, pour des raisons qui sont encore à cette heure pratiquement inconnues, il est possible de retrouver parfois chez l'adulte tous les éléments de la lignée mégalo-blastique.

Paragraphe 2 - LES FORMES EMBRYONNAIRES DES HEMATIES CHEZ

L'ADULTE.-

Il existe en effet chez l'individu une affection caractérisée par une véritable transformation de la moëlle osseuse en un tissu qui donne naissance non plus à la lignée rouge définitive proérythroblastique mais à la lignée embryonnaire mégalo-blastique. Ce phénomène, outre son importance médicale que nous ne soulèverons pas ici, pose un problème d'embryologie dont les bases physiologiques et biochimiques offrent un intérêt qui n'échappe à personne. Bornons-nous, pour le moment, aux seules données de cytologie hématologique. Cette affection, désignée communément sous le nom d'anémie pernicieuse d'Addison-Biermer, permet de mettre en évidence dans la moëlle osseuse (et dans ce tissu seulement) la lignée rouge mégalo-blastique, mais avec des particularités sur lesquelles nous allons mettre maintenant l'accent.

Si le mégalo-blaste offre dans l'ensemble des caractères qui ne l'éloignent pas de la cellule embryonnaire, il est facile de constater que l'évolution de cette cellule montre que la régularité dans la maturation des éléments qui lui succèdent à fait place à l'anarchie. Très tôt, le noyau se déforme, se lobe, se fragmente irrégulièrement en détachant des petits fragments qui vont, en suivant le processus habituel (mais dans une cellule anormale) donner naissance aux futurs corps de Jolly. Le protoplasme va suivre grossièrement à partir du mégalo-blaste l'évolution polychromatophile, mais tous les phénomènes vont être marqués par de l'irrégularité: teintes violettes, vives, inégales par places, parfois ponctuations rouge vif, élimination de fragments, etc.. L'évolution parallèle du noyau et du protoplasme va être complètement perturbée: le premier est, dans l'immense majorité des cas, en retard sur le second.

Dans ces conditions, il est extrêmement difficile de donner un nom aux cellules intermédiaires qui forment une chaîne interrompue et le terme de mégalo-blaste polychromatophile n'est jamais strictement exact. A la rigueur peut-on faire une entité du mégalo-cyte nucléé.

Le mégalo-cyte ou érythrocyte primordial est, lui, bien caractérisé : c'est une énorme hématie, de 10 à 12 μ , parfois plus, ronde ou elliptique, à dépression centrale inexistante. Il est très chargé en hémoglobine et offre un aspect "plein". A côté de lui, on remarque de temps en temps des formes naines de 3 à 4 μ , différentes des microcytes de la lignée définitive et qui sont des fragments de cytoplasme détachés de mégalo-blastes ou de mégalo-cytes.

Nous comprenons maintenant l'intérêt qu'a l'hématologiste de savoir distinguer très exactement le mégalo-blaste et le proérythro-blaste car ils ont une signification différente.

Il est évident que les faits que nous venons de résumer devaient, dès leur découverte, susciter nombre de recherches. Si l'affection sanguine intéressait en premier chef la science médicale, la recherche des causes allait éveiller chez les physiologistes, biologistes, biochimistes et chimistes un intérêt passionné. Près de cinquante ans d'efforts n'ont pas réussi à apporter au problème du déterminisme de la reviviscence des hématies embryonnaires chez l'adulte une réponse satisfaisante. Les hypothèses les plus ingénieuses et l'expérimentation la plus adroite se sont soldées par une telle somme de travaux que nous ne pouvons faillir à les résumer maintenant avant de relater notre contribution personnelle.

-:-:-:-:-

CHAPITRE III

LE PROBLEME DE LA MATURATION ET DU DEVELOPPEMENT DE L'HEMATIE

-:-:-:-:-

Paragraphe 1 - L'ANEMIE PERNICIEUSE D'ADDISON-BIERMER :

DONNEES ANATOMIQUES, PHYSIOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES.-

Il est classique de dire que cette affection est une anémie hyperchrome, mégaloblastique, mégaloocytaire et hépatosensible. Cette définition fait surtout appel à des notions d'ordre hématologique, que nous avons pour cette raison résumées dans le chapitre précédent. Il nous reste maintenant à les inclure dans un ensemble.

Nous ne ferons pas ici un exposé clinique qui ne serait pas à sa place dans ce travail mais nous examinerons les faits pouvant être utiles à la compréhension du mécanisme de l'immaturation globulaire.

Au cours de l'anémie biermérienne, le nombre des hématies est en général très fortement diminué. Alors que chez l'individu normal il oscille entre 4.500.000 et 5.000.000 par mm³, il est habituel de trouver des valeurs comprises entre 1 et 2 millions; Parfois même, le chiffre est inférieur à 1 million. Les variations spontanées ne sont pas rares, Le taux d'hémoglobine est toujours très bas. De 150 grammes par litre, chiffre normal, il tombe à 60 grammes et même 30 grammes. Cependant la chute globulaire est pratiquement toujours plus importante que celle de l'hémoglobine. Les hématies sont plus chargées en hémoglobine, ce qu'on traduit par le terme d'hyperchromie.

La numération des éléments figurés du sang met également en évidence une diminution du nombre des globules blancs et accessoirement des plaquettes sanguines, preuve que la lignée rouge n'est pas seule intéressée.

L'examen des frottis de sang conduit à d'autres constatations. Corroborant les observations faites au cours des numérations, il permet de voir souvent que le diamètre moyen des hématies est augmenté et de noter la présence de mégaloocytes. Anisocytose, poikilocytose, polychromatophilie sont chose courante. Parfois, on relève la présence d'hématies à granulations basophiles, de corps de Jolly, etc... Les hématies nucléées (normoblastes) sont rares. On ne voit pratiquement jamais de mégaloblaste.

L'étude des globules blancs (formule leucocytaire) traduit une diminution du pourcentage des granulocytes qui offrent des aspects anormaux (gigantisme de certaines granulations et multisegmentation nucléaire). Le pourcentage des lymphocytes est augmenté. Nous ne nous appesantirons pas sur l'aspect des frottis de moëlle osseuse après ce que nous avons dit dans le précédent chapitre. La simple mise au point du microscope montre les mégalo blasts nombreux, une maturation troublée, anarchique. Rien ne manque et le doute que pouvait laisser subsister le seul examen de sang fait place à une éclatante certitude.

Le système hématopoiétique n'est pas seul intéressé. Parmi les constatations dignes d'intérêt pour les recherches à entreprendre, nous signalerons l'existence sur les bords de la langue, qui est dépapillée, de petites taches ou de vésicules. L'examen de la muqueuse gastrique montre l'existence de plaques nacrées, scléreuses et atrophiques. Le suc gastrique révèle une diminution considérable du taux de l'acide chlorhydrique, voire même sa disparition. Enfin, inconsciemment sont associés à l'anémie (ou même les précèdent) une série de troubles nerveux qui trouvent leur substratum anatomique et histologique dans une dégénérescence des fibres longues des cordons postérieurs de la moëlle épinière.

Telles sont les notions capitales à ne point méconnaître. Il en est une autre à mettre sur un plan différent : sous l'influence de l'administration par voie buccale de quantités énormes de foie ou d'injection d'extraits convenablement purifiés, on assiste à une modification complète portant surtout sur les organes hématopoiétiques.

1) Le premier signe est une crise réticulocytaire qui apparaît entre le 4ème et le 5ème jour. Les réticulocytes sanguins, de 15 à 30%⁰⁰ hématies atteignent des chiffres de 150, 300, même 500%⁰⁰.

2) Les mégalo cytes disparaissent, le taux de globules rouges revient à la normale.

3) L'hémoglobine augmente, un peu plus lentement cependant.

4) Dans la moëlle osseuse, tout redevient normal. On observe une véritable transformation de la lignée mégalo blastique embryonnaire en lignée proérythroblastique définitive. Nous disons bien transformation et non substitution car il semble bien qu'il ne faille pas établir entre les deux lignées une infranchissable barrière. Pendant que le foie exerce son action, il est possible de voir des cellules d'aspect intermédiaire.

Arrivé à ce point de notre exposé, nous voudrions dire que c'est volontairement que nous n'avons pas, jusqu'à cet instant, fait

appel à une seule référence bibliographique. Les notions que nous venons de développer sont incontestées et figurent dans tous les traités classiques d'hématologie. Il était néanmoins nécessaire de les grouper et de les résumer comme nous l'avons fait pour en préciser leur portée ultérieurement. Les pages qui vont suivre vont maintenant nous transporter dans un domaine expérimental dont on appréciera la diversité.

Paragraphe 2. - LES HYPOTHESES PHYSIOLOGIQUES RELATIVES AU
MECANISME DE L'IMMATURATION DES HEMATIES.-

Nous allons passer rapidement en revue quelques théories anciennes pour arriver rapidement sur un terrain plus solide. Il a été incriminé l'insuffisance gastrique faisant perdre au chyme son action antimicrobienne. On rencontre, en effet, dans l'intestin du biernérien, une abondance accrue de streptocoques hémolytiques et de colibacilles (susceptibles de devenir hémolytiques in vivo en présence de certains aminoacides?) Cette flore surabondante et d'une septicité inaccoutumée n'explique cependant pas les graves troubles de l'hématopoïèse. Nous ne retiendrons pas plus les anciennes théories sur l'existence, du fait de l'insuffisance gastrique, de produits intermédiaires de protidolyse à action hémolytique et nous ne nous attacherons pas d'avantage à l'hypofonctionnement ou dysfonctionnement de la cortico-surrénale entraînant une hyperactivité de l'appareil réticuloendothélial, d'où hémolyse excessive à laquelle la moëlle osseuse répondrait par un retour à l'hématopoïèse de l'état embryonnaire... La question de l'immaturation des hématies n'a été vraiment posée avec intérêt que le jour où quelques chercheurs ont supposé que si la moëlle osseuse redevenait embryonnaire, c'est qu'il lui manquait un métabolite essentiel. Cette découverte capitale devait être le fruit d'un patient travail de quelques expérimentateurs américains.

Il ne nous est pas possible de faire au cours d'un exposé qui ne vise qu'à être préliminaire un développement complet d'une question certes passionnante, mais longue. Ce serait d'ailleurs faire oeuvre inutile après CHEYMOL (28 bis) qui a rédigé en 1940 une excellente mise au point de nombre de questions qui touchent à ce travail. Au cours de tout ce chapitre, nous nous contenterons souvent de résumer ce qu'il a écrit à cette date avec l'appui d'une bibliographie complète.

Le début des recherches semble remonter vers 1920 avec les travaux de WHIPPLE & ROBSCHKEIT-ROBBINS sur la régénération de l'hémoglobine chez les animaux saignés à intervalle régulier. Ces auteurs mirent en évidence la valeur du foie dans la réparation des anémies banales ainsi provoquées. L'application de leurs recherches à l'anémie perniciose humaine (car on était loin de penser à une réalisation chez l'animal) fut faite par MINOT & MURPHY. Couronnée d'un succès éclatant, le monde entier la connut rapidement.

Cependant, tous ces travaux n'établissaient pas une discrimination entre les anémies banales et l'anémie perniciose telle que

nous l'avons définie. L'idée géniale de CASTLE devait orienter le travail dans une direction alors pleine de promesses. CASTLE pensait à priori que l'achylie gastrique du biermerien empêchait l'élaboration d'un élément nutritif nécessaire au renouvellement normal des hématies et dont la carence déterminait l'anémie pernicieuse. Cet élément, préformé dans le foie des mammifères, permettait aux préparations de cet organe de suppléer à la carence chez le biermerien. Une série d'expériences parfois héroïques devaient mettre en valeur de façon incontestable le rôle joué par l'estomac dans l'hématopoïèse. Les travaux aboutissaient à la théorie suivante :

Le suc gastrique contient, en dehors de l'acide chlorhydrique et de la pepsine, un "facteur intrinsèque" ou hémogénase, de nature diastasique, détruit par la pepsine, la trypsine ou la chaleur à 45°. Agissant en milieu neutre ou acide, il serait sécrété surtout par les glandes pyloriques mais aussi par les glandes de Brunner du duodénum. Seul, le principe serait sans action; mais, en contact d'un "facteur extrinsèque" ou hémogène, thermostable, présent dans le muscle, le foie, la levure de bière, le lait, etc....il donnerait naissance au "principe antipernicieux" ou hémone qui s'accumulerait dans les organes et particulièrement dans le foie.

Cette séduisante théorie connaît encore à l'heure actuelle beaucoup de défenseurs. Il ne subsiste que quelques discussions relatives à l'existence du principe intrinsèque (MORRIS, GREENSPON). Le principe antipernicieux a été retrouvé dans le foie du fœtus mais il est absent dans celui du biermerien. D'autres organes le renferment mais la rate, le pancréas et la moëlle osseuse en sont dépourvues. La glande hépatique de nombreuses espèces animales, herbivores, omnivores et carnivores a été étudiée à ce point de vue : l'activité se retrouve partout sauf de très rares exceptions (9). Le principe intrinsèque gastrique n'a pas été non plus sans susciter de nouveaux travaux et mises au point (130). L'expérimentation animale a permis de définir l'électivité de certaines régions gastriques chez le porc (117) et d'affirmer à nouveau l'importance des glandes duodénales de Brunner (19).

Des recherches récentes l'assimilent à l'aminopolypeptidase (1), du moins chez le porc. Pour ce qui touche au stockage du principe antipernicieux, il semble absolu d'après LANGE, RAMSEY, et MOORE (87), l'excrétion urinaire après surcharge expérimentale s'avérant nulle.

Si nous exceptons les résultats récents que nous venons de citer, nous voyons que les travaux successifs de WHIPPLE, MINOT & MURPHY, puis CASTLE, offraient aux expérimentateurs des perspectives pleines d'intérêt. Les études entreprises n'apportèrent cependant pas en vingt ans une solution définitive au problème.

Paragraphe 3 - ETUDES EXPERIMENTALES

Nous allons, pour la commodité de l'exposition de notre travail, scinder ce résumé d'un nombre considérable de recherches en

plusieurs parties. Nous verrons de suite schématiquement les travaux antérieurs à nos investigations personnelles ainsi que ceux auxquels nous sommes resté étranger et nous envisagerons dans des chapitres spéciaux les données récentes qui ont servi de base à nos recherches propres.

Il y avait, et il y a encore, trois façons d'aborder le problème dont nous venons de définir l'inconnue. La première est une méthode physiologique consistant à essayer de réaliser chez l'animal d'expérience une anémie à moëlle osseuse mégalo-blastique. La deuxième est du domaine du chimiste et plus particulièrement de l'analyste; elle consiste en des essais d'isolement du principe antipernicieux à partir du foie en vue d'une identification chimique ultérieure. Or, on comprend de suite que cette dernière façon de procéder voit ses chances de succès dépendre d'une méthode de titrage précise du principe antipernicieux. C'est pourquoi les biologistes et physiologistes se sont attachés à ce troisième aspect de la question. Disons de suite que tous les efforts tentés n'ont abouti qu'à des résultats partiels et que l'esprit demeure insatisfait devant les conclusions permises à l'heure actuelle.

A) Essai de réalisation d'une anémie de type biernérien.

Ici surgit d'emblée une première difficulté. Nous avons vu au cours des exposés précédents les différents caractères de l'anémie biernérienne. Doit-on exiger la réalisation au complet chez l'animal de tous les signes ? D'ailleurs, le caractère "mégalo-blastique" appelle une petite remarque. Il existe en effet chez l'individu, outre un groupe d'anémies macrocytaires assez voisines de l'anémie d'Addison-Biermer, et dont nous ne parlerons pas, certaines avitaminoses, surtout B₂ et PP(169-170), accompagnées d'anémie avec présence de formes voisines du mégalo-blaste dans la moëlle osseuse. Ce point étant précisé, nous allons résumer les différents travaux effectués.

Il faut reconnaître que de nombreux essais qui ont été tentés ne tenaient pas compte des données d'ordre physiologique que nous avons résumées dans les pages précédentes. Le but à atteindre était l'obtention d'une anémie chez l'animal (sans trop se préoccuper de son type) pouvant servir à l'étude de l'action éventuelle des extraits hépatiques. Aussi ne ferons-nous qu'une simple citation :

Anémies par hémorragies

Anémies "toxiques" par - Rayons X et corps radioactifs
Phénylhydrazine
Saponine - Toxines bactériennes
Acides gras polyéthyléniques
Blocage du système réticulo-endothélial, etc...

Nous mettons volontairement à part l'anémie consécutive à l'intoxication par le plomb qui fera l'objet d'un chapitre ultérieur consacré à des recherches.

Nous renvoyons pour une étude plus détaillée et des références bibliographiques à la mise au point de CHEYMOL (28 bis) afin de nous attacher un peu plus à des travaux basés sur l'existence des principes extrinsèque et intrinsèque.

1) Principe extrinsèque : Celui-ci étant présent dans les aliments, il était logique d'essayer de réaliser des anémies par régime. En dehors de certains essais de nutrition au lait qui ne nous retiendront pas, nous renvoyons aux chapitres spéciaux de ce travail consacrés à l'influence de certaines aminocacides et de principes vitaminiques (acide pantothénique, acide folique) étudiés au cours de ces dernières années.

2) Principe intrinsèque : Réaliser la suppression du principe intrinsèque chez l'animal était une hypothèse de travail séduisante qui a été suivie par de nombreux auteurs. De 1931 à 1936, beaucoup d'expériences ont été tentées sur divers animaux (chien, rat, lapin, singe); mais les plus intéressantes constatations ont été faites chez le porc. Les meilleurs résultats avant 1940 avaient été obtenus à la suite de gastrectomie totale avec ablation de la muqueuse duodénale jusqu'à l'embouchure du cholédoque. Il se développait dans ces conditions une anémie hypochrome et microcytaire au cours de la première année, suivie un ou deux ans après d'une anémie macrocytaire et mégalo-blastique (?), assez voisine de l'anémie de Biermer. Les travaux ont été repris et précisés par la suite. GEIGER, GOODMAN & CLAIBORN (57) ont confirmé la disparition du principe antipernicieux du foie du porc gastrectomisé par des essais d'extraits de ce foie sur l'homme. Mais la question s'est avérée beaucoup plus complexe car il semble bien que si la gastrectomie influe de façon certaine sur la maturation des globules rouges, il faut faire intervenir une avitaminose PP du type/pellagre dans ce déterminisme (118-182). La mégalo-blastose (ou pseudo-mégalo-blastose ?) serait du type de celle rencontrée au cours de cette carence. C'est là une constatation assez peu encourageante pour des travaux ultérieurs. Néanmoins, nous avons vu que d'autres auteurs ont, au cours de ces dernières années, étudié chez le porc les rôles respectifs des diverses parties des muqueuses gastrique et duodénale (19-117).

Les expériences effectuées chez le chien par CRANDALL, FINNE & SMITH (32-33) n'ont pas été des ablations mais des déviations biliaires : c'est un peu arbitrairement que nous les plaçons ici. Selon ces auteurs, l'absence de bile dans le tube digestif gênant l'absorption du facteur de maturation des érythrocytes, il se créait une anémie hyperchrome et macrocytaire. Ces expériences qui datent de six ans auraient dû certainement faire avancer la question. Le fait que de nombreux auteurs essaient encore actuellement de réaliser une anémie biernérienne chez l'animal prouve que le but réel n'avait pas été atteint par CRANDALL et ses collaborateurs en 1941. Actuellement, il faut bien reconnaître qu'il n'existe aucune solution parfaite au problème.

B) Essai d'isolement du principe antipernicieux.--

Nous serons assez bref sur ce point bien que des travaux

considérables aient été consacrés à cette question. Il suffit de se reporter à CHEYMOL (28 bis) pour en saisir toute l'étendue : purification des extraits de foie, fractionnements sur d'énormes quantités de matière première n'ont pas permis d'élucider en vingt ans la structure chimique du principe antipernicieux. Il semble bien que les produits les plus purs, c'est-à-dire actifs sur l'homme aux doses les plus faibles aient été préparés par KARRER et ses élèves (77-78-79). Dans un travail de 1941 que les circonstances actuelles ne nous ont malheureusement pas permis d'examiner en détail, MAZZA, MIGLIARDI & PENATI (184) parlent de l'isolement du principe extrinsèque qui serait de nature polypeptidique. Ces auteurs donnent la liste et les proportions des différents aminoacides issus de la protidolyse. Six ans nous séparent déjà de ces recherches qui ne semblent pas avoir eu l'écho dévolu aux grandes découvertes. L'avenir seul nous fixera sur ce point. De même, les espoirs mis en la tyrosine (72) n'ont pas été couronnés de succès.

Il nous resterait maintenant à entreprendre le récit compliqué des innombrables travaux qui ont présidé au cours de ces dernières années à l'isolement de l'acide pantothénique et de l'acide folique. Nous avons déjà dit que nous le ferions dans des chapitres séparés consacrés d'ailleurs à des recherches personnelles.

C) Essai d'appréciation de l'activité antipernicieuse

La troisième voie d'abord du problème n'a pas non plus fourni aux expérimentateurs des résultats satisfaisants. On imagine cependant l'intérêt que pouvait présenter un test quelconque appréciant la valeur réelle antipernicieuse d'un produit. Un très grand nombre d'anémies expérimentales que nous avons citées plus haut ont servi de banc d'essai aux préparations antipernicieuses (hépatiques pour la plupart.) Les réponses obtenues sont plus souvent qualitatives que quantitatives. De plus, elles doivent être examinées par l'expérimentateur avec beaucoup d'esprit critique. En effet, nous avons suffisamment laissé entendre la différence entre les anémies banales et l'anémie pernicieuse. A cette dualité en correspond une autre dans les principes "antianémiques" hépatiques : un, banal n'agit que sur la régénération de l'hémoglobine; l'autre, antipernicieux, préside à la maturation des cellules de la lignée rouge. Or, nombre des anémies expérimentales réagissent surtout au premier. Si on tient compte du fait que la plupart des extraits hépatiques, même purifiés, contiennent souvent d'appréciables proportions de principe antianémique banal, on saisit de suite combien peuvent être erronées les conclusions.

Dans le cadre des anémies expérimentales, nous ne mettrons à part que l'anémie saturnine qui semble avoir un certain intérêt, mais nous l'étudierons dans un chapitre spécial au cours de notre travail personnel.

Devant les nombreux échecs de titrage sur des animaux préparés, les expérimentateurs se sont tournés vers des procédés indirects. N'en

CHAPITRE IV

PLAN DE TRAVAIL ET TECHNIQUES UTILISEES AU COURS DE NOS RECHERCHES

-:-:-:-:-

Paragraphe 1 - VOIES D'ABORD DU PROBLEME.

Les résultats des travaux que nous venons de passer en revue rapidement ne sont guère encourageants pour les chercheurs. En commençant ce travail, nous avons pressenti de suite la nécessité de réduire notre champ d'action aux expérimentations de notre ressort, c'est-à-dire hématologique, biochimique et physiologique. Même dans ce domaine, il était encore obligatoire de ne faire que des hypothèses compatibles avec les moyens mis à notre disposition. C'est du côté des anémies expérimentales que nous avons tourné la grande partie de notre activité. L'idéal restait évidemment la réalisation d'une anémie biermerienne ou tout au moins hyperchrome, mégaloocytaire et mégaloblastique. En ce qui concerne cette dernière éventualité, nous avons eu continuellement à l'esprit cette notion qu'il ne fallait pas séparer de façon absolue les lignées embryonnaire et définitive, la première se transformant en la seconde chez le biermerien soumis à l'hépatothérapie. Puisqu'il ne s'agissait pas de mutation, on pouvait penser que la carence était susceptible, par des degrés successifs, de se parfaire. Etant donné que le proérythroblaste est une cellule relativement rare dans la moëlle, le premier degré à atteindre était d'en produire la prolifération en agissant sur les deux facteurs intrinsèque et extrinsèque, soit séparément, soit en même temps. Quant au dosage du principe antipernicieux, parmi les méthodes étudiées jusqu'en 1942, la crise réticuloocytaire chez l'animal normal, qui a au moins un point commun avec les phénomènes observés chez le biermerien, a retenu notre attention en premier chef.

Paragraphe 2 - CHOIX DE L'ANIMAL ET PARTICULARITES HEMATOLOGIQUES QUI S'Y RATTACHENT.-

Les expériences qui vont être relatées portent sur le rat blanc, animal d'expérience que nous avons choisi pour l'ensemble de nos recherches. Des considérations matérielles qui ne se comprennent que trop nous ont fait écarter d'emblée les grands animaux, surtout pour des études de carence. Restaient donc lapin, cobaye rat et souris.

Le lapin est un excellent animal d'étude dont nous aurons à parler en relatant des travaux relatifs aux essais de titrage du princi-

pe antipernicieux. Nous ne l'avons pas retenu pour notre travail étant donné notre résolution d'expérimenter sur des séries assez importantes d'individus.

Le cobaye offre des difficultés pour des études hématologiques nécessitant des prises de sang minimales mais très souvent répétées. La piqûre à l'oreille n'offre que des possibilités limitées de même que la ponction cardiaque qu'il convient de ne pas répéter par trop souvent.

La souris se prête également mal à ce genre d'études pour des raisons autres. En effet, si on considère, en étant large dans l'appréciation, qu'une souris de 20 grammes possède environ 2 cm³ de sang, une prise de 0,05 cm³ correspond à une soustraction de 1/40 du volume total. Sans attacher une valeur absolue à la comparaison qui va suivre mais pour fixer un ordre d'idées, cette saignée correspondrait chez un homme normal (6 litres de sang) à une prise de 150 cm³. Or, la perte d'un tel volume met en jeu habituellement les moyens de régénération classique (123). Travailler sur la souris dans ces conditions correspond à étudier un animal au système hématopoïétique complètement perturbé par des hémorragies répétées.

Restait donc le rat blanc. Cet animal offre plusieurs avantages : en premier lieu, son chiffre élevé de globules rouges (9.000.000 par mm³ en moyenne) qui rend très nettes les anémies, quand celles-ci existent ; d'un autre côté, les petites prises de sang s'avèrent simples et rapides par section de la queue. Des inconvénients doivent cependant être signalés : le plus important est l'instabilité du chiffre des hématies, plus grande que celles des autres animaux vus précédemment, à l'exception de la souris. Ces variations peuvent atteindre dix pour cent. On peut cependant réduire ces erreurs en opérant toujours dans des conditions identiques, particulièrement en effectuant les prises de sang à la même heure de la journée. Malgré ces précautions, il convient de travailler sur plusieurs animaux à la fois.

Le rat étant choisi, il n'est peut être pas inutile de rappeler quelques particularités hématologiques qui lui sont propres afin de ne pas avoir à y revenir au cours des exposés ultérieurs. Nous ne parlerons pas des chiffres de leucocytes, de plaquettes ainsi que des aspects de la formule leucocytaire car nous n'aurons pratiquement jamais à en faire état. Les réticulocytes du sang circulant nous retiendront plus longuement ailleurs mais disons maintenant que les valeurs normales oscillent entre 10 et 25 pour 1000 hématies. La plupart des animaux qui dépassent ce chiffre peuvent difficilement être considérés comme normaux car ils sont le plus souvent infectés par des Bartonella.

Nous aurons souvent à parler des examens de moëlle osseuse chez le rat et ceci nous oblige à apporter quelques précisions. Parmi les études cytologiques faites à ce sujet, nous rappellerons simplement celle de BERNARD (12) en 1936 et une autre assez récente d'ENDICOTT &

OTT (52) en 1945 où on trouvera les références bibliographiques essentielles. Avec ces derniers auteurs, nous classerons qualitativement les éléments médullaires de la façon suivante :

1) Granulocytes neutrophiles.

- a) formes âgées (polynucléaires et métamyélocytes) :
protoplasma pâle, granulations neutrophiles, noyau segmenté ou en forme d'anneau (particularité qui n'existe pas chez l'homme), à chromatine grossière.
- b) formes jeunes (myélocytes et promyélocytes) :
grandes cellules à protoplasma bleu parsemé de granulations azurophiles ou neutrophiles, noyau entier ou annulaire à chromatine plus fine que dans les formes âgées; présence facultative de nucléoles.

2) Granulocytes éosinophiles

3) Lymphocytes

4) Blastes

grandes cellules à protoplasma bleu sans granulations; grand noyau nucléolé à chromatine fine.

5) cellules de la lignée rouge : hématies, normoblastes, érythroblastes et proérythroblastes.

Elles nous intéressent particulièrement. Nous signalerons en plus des auteurs classiques la taille assez réduite des proérythroblastes qui ne dépassent en général pas 15 μ .

6) cellules diverses : mégacaryocytes, cellules réticulo-endothéliales, cellules basophiles, cellules de la trame et de nombreuses cellules non identifiées (noyaux nus, etc...).

Le pourcentage de ces divers éléments varie suivant les auteurs. Dans un récent travail, ASCHKENAZY (7) rappelle ces divergences.

STASNEY & HIGGINS

62,75 %	de cellules myéloïdes
1,36 %	" " lymphoïdes
35,89 %	" " nucléées de la lignée rouge

OVERBECK & QUERIDO

52 % de cellules myéloïdes

29 % de cellules lymphoïdes

19 % de cellules nucléées de la lignée rouge.

ASCHKENAZY (7) effectue un pourcentage sur un mode différent. Il sépare les leucocytes de la lignée rouge et trouve, pour 100 leucocytes, 50 à 70 % de cellules myéloïdes et environ 40 % de mononucléaires. Quant aux éléments nucléés de la lignée rouge, il leur reconnaît des limites extrêmement variable : 9 à 90 % du nombre des leucocytes.

Si nous pensons que ce dernier chiffre correspond à des animaux surement anormaux, nous suivons cet auteur dans son opinion sur la distinction parfois difficile de certains érythroblastes avec des petits lymphocytes. Le travail de ENDICOTT & OTT (52) apporte une donnée nouvelle en différenciant les animaux âgés de moins et de plus de 60 jours. En voici les résultats, fruit d'une technique parfaite (dilution de la moëlle dans du plasma et vérification par coupe histologique pour tenir compte des éléments très adhérents à la trame).

TABEAU 1

Eléments figurés	Pourcentage des éléments et variations observées	
	Rats de plus de 60 jours	Rats de moins de 60 jours
Polynucléaires et méta-myélocytes	34,5 ± 6,19	16,2 ± 8,36
Myélocytes et promyélocytes	9,2 ± 2,31	7,7 ± 6,3
Leucocytes éosinophiles de tous les types	8,3 ± 5,3	4,8 ± 1,9
Cellules nucléées de la lignée rouge (de tous les types)	30,8 ± 2,52	53,5 ± 11,5
Blastes	1,9 ± 0,57	1,3 ± 0,85
Lymphocytes	13,3 ± 4,27	14,8 ± 7,68
Autres cellules	2,0 ± 1,08	1,7 ± 1,00
Total des granulocytes	52,0 ± 9,46	28,6 ± 14,5
<u>Cellules myéloïdes</u>		
Cellules nucléées de la lignée rouge	1,93 ± 0,43	0,62 ± 0,504

Les nombreux examens de moëlle osseuse de rat normal adulte que nous avons effectués depuis plusieurs années donnent des chiffres du même ordre. Nous étant du fait de nos recherches plus particulièrement occupé des éléments de la lignée rouge, nous ajouterons quelques petits détails.

Nous avons dit que les proérythroblastes étaient dans l'ensemble assez petits : ajoutons qu'ils sont extrêmement rares. De même les érythroblastes basophiles à protoplasme net et noyau en mosaïque ne forment pas la majorité des cellules. Une très grande partie (90 % environ) des éléments nucléés de la lignée rouge sont des petits érythroblastes polychromatophiles ou orthochromatiques dont le cytoplasme est assez réduit et le noyau très pyknotique. De là vient la confusion fréquente avec des petits lymphocytes.

Enfin disons pour terminer que tout notre travail a porté sur des animaux de plus de 60 jours dont la moëlle est à prédominance granulocytaire.

Paragraphe 3 - RAPPEL DES TECHNIQUES HEMATOLOGIQUES CLASSIQUES

UTILISEES.-

Nous serons très brefs. Les méthodes de numération globulaire sont trop connues pour que nous nous y arrétions. Nous avons utilisé pour les numérations de réticulocytes la méthode de LAUR (89) mais avons été obligé de mettre au point une micro-technique de détermination de l'hémoglobine.

Paragraphe 4 - TECHNIQUE PERSONNELLE - MICRODETERMINATION DE

L'HEMOGLOBINE (128)

Il n'est pas dans notre intention de faire ici un exposé même schématique des nombreuses méthodes de dosage de l'hémoglobine qui ont été proposées depuis longtemps. Leur multiplicité indique que peu répondent à ce qu'on attend d'elles. La détermination du pigment sanguin est une épreuve qui exige souvent d'être multipliée, dans ce ne pas exiger une technique de mise en oeuvre longue. Elle doit cependant être suffisamment précise car les variations sont minimes.

Le travail physiologique que nous désirions entreprendre limitait nos prises de sang au maximum de 0,02 cm³. Il ne pouvait être question des méthodes de détermination chimique du fer portant sur 2 à 3 cm³ (54). Quant aux techniques colorimétriques, en dehors de certaines à rejeter complètement, leur terminaison par une lecture directe à l'oeil rendait difficile la réduction de l'erreur à moins de 5 %, en exceptant celle de DOGNON (47). Nous avons pensé qu'il y aurait cependant intérêt à substi-

tuer à la lecture directe une mesure photométrique qui avait été retenue par d'autres que nous (45). Restait à préciser le mode d'obtention de la dilution sanguine hémolysée destinée à l'examen.

DOGNON (47) recommandait l'eau distillée neutre avec centrifugation ultérieure. DICK & STEVENS (45) préféraient une solution de carbonate de sodium sans centrifugation.

Nous avons de notre côté essayé un certain nombre d'agents hémolysants mais beaucoup altèrent le pigment ou tout au moins donnent des solutions colorées dont la densité optique est inférieure à celle d'un mélange type de sang et d'eau distillée pris au début comme référence. Nous avons été conduit à éliminer ClH , OHNa , OHNH_4 , éther, chloroforme, pour utiliser les propriétés de la saponine ⁴ qui, en solution à 1 pour 1000 dans l'eau distillée nous a donné les résultats les plus satisfaisants. En effet, la libération de l'hémoglobine est sensiblement complète et la quantité de pigment que retient le précipité légèrement rosé séparé par centrifugation après 30 minutes d'hémolyse s'avère négligeable.

Dans le tableau ci-dessous sont consignées les valeurs de densités optiques X 100 de dilutions de sang au 1/100 avec l'eau distillée, une solution de carbonate de sodium cristallisé à 1 %⁰⁰ et la solution de saponine, en faisant varier les temps d'hémolyse. Les mesures ont été faites sur le liquide centrifugé avec le photomètre de BONET-MAURY (1) écran vert, sensibilité 2.

TABEAU 2

Temps d'hémolyse	5 minutes	15 minutes	30 minutes	60 minutes
eau distillée	75,1	76,0	76,4	76,7
CO_3Na_2 1 % ⁰⁰	75,2	74,2	74,8	74,9
Saponine 1 % ⁰⁰	77,0	77,9	78,8	78,6

Nous voyons que l'hémolyse la plus complète est obtenue avec la saponine et que le temps limite de 30 minutes paraît suffisant.

En pratique, nous avons recommandé la technique suivante : le

(1) JOUAN Constructeur, 113 boulevard Saint Germain - Paris.

mélange de sang est obtenu en diluant 0,02 cm³ de ce liquide avec la quantité suffisante de solution de saponine à 1°/° pour faire 2 cm³ dans un tube à centrifuger bouché qu'on abandonne à la température ordinaire pendant 30 minutes. On centrifuge alors (environ 5 minutes à 4000 tours/minute) et on examine au photo-colorimètre de BONET-MAURY (écran vert, sensibilité 2) le liquide clair décanté.

Pour vérifier si la technique était applicable et si les phénomènes photométriques relatifs aux dilutions d'hémoglobine suivaient la loi de BEER-LAMBERT, nous avons déterminé par la méthode de FLEURY & MARQUE (54) le taux de fer total d'un sang et avons effectué une série de dilutions accompagnées de mesures photométriques. En voici les résultats :

Tableau 3

Fer (mg. pour 1000 g. de sang)	Densité optique X 100 du sang dilué au 1/100
480	78,8
320	52,5
240	39,5
160	26,5
120	19,3

Nous avons pu constater que les densités optiques étaient bien proportionnelles aux taux de fer.

Nous avons ensuite opéré sur divers sangs provenant de sujets plus ou moins anémiés.

Tableau 4

Fer (mg. pour 1000 g. de sang)	Densité optique X 100 du sang dilué au 1/100
480	77,8
460	74,8
420	68,1
376	62,5
340	57,1
312	49,8
196	33,1

Ces résultats ont été publiés inscrits sur une courbe (128) que nous ne répèterons pas ici. Ils permettent de conclure que les erreurs n'excèdent pas 2 %.

La méthode de dosage du fer rapporte les chiffres à 1000 grammes de sang. La détermination de la densité de celui-ci nous a permis de passer à une valeur exprimée en volume et de là à la teneur en hémoglobine. Le pigment sanguin des mammifères ayant classiquement une teneur en fer constante, nous avons pu établir les courbes d'étalonnage de l'appareil pour le sang de rat.

Des travaux postérieurs (27-28-60) ont montré l'importance de la séparation du stroma globulaire par filtration ou centrifugation au cours des déterminations photométriques de l'hémoglobine. D'un autre côté, on a insisté sur l'intérêt présenté par un éclairage monochromatique (60), la lumière correspondant à la longueur d'onde de la raie verte du mercure étant la meilleure (61). Il faudrait d'ailleurs se préoccuper si les dosages sont effectués sur du sang veineux ou artériel car les proportions différentes d'hémoglobine réduite et d'oxyhémoglobine donnent dans les deux cas des teintes rouges qui ne sont pas identiques. Les dosages effectués sur du sang capillaire (c'est-à-dire mélangé) obtenu par section de la queue du rat n'exigent peut-être pas une telle précision pour les longueurs d'onde et nous croyons que l'écran vert du photomètre suffit à garantir une précision suffisante.

Nous avons par ailleurs constaté, au cours de notre travail, qu'il était parfois assez difficile d'obtenir 0,02 cm³ de sang par section de la queue du rat. Devant la bonne précision obtenue par ces dosages, nous avons essayé de réduire encore les prises d'essai. Utilisant ultérieurement l'électro-photomètre de MEUNIER (+) muni de cuves permettant de mesurer l'absorption sur 1 centimètre d'épaisseur de liquide de volume total de 1,2 cm³, nous avons pu effectuer des déterminations sur des quantités de sang prélevées pour une numération globulaire, mais en utilisant la solution de saponine comme liquide de dilution. Le contenu de la pipette (sang dilué au 1/100) n'excédant pas 0,08 cm³, il suffit de rejeter ce liquide (sauf la première goutte) dans un petit tube à hémolyse et de prélever avec une pipette précise 0,6 cm³ que l'on mélange avec une quantité identique de la solution hémolysante. On réalise ainsi une dilution à 1/200. Le tambour du photomètre de MEUNIER portant une graduation telle que 100 divisions correspondent par exemple à une densité optique de 0,36 en lumière verte, il est très possible d'effectuer un dosage correct dans ces conditions en gardant toujours un mode opératoire strictement identique (distance de la cuve à la source lumineuse, grandeur du diaphragme, sens de passage de la lumière dans la cuve).

Les numérations globulaires et le dosage d'hémoglobine étant connus, il reste maintenant le calcul de la valeur globulaire. C'est

(+) JOBIN & YVON constructeurs : 26 rue Berthollet à Arcueil

classiquement la teneur en hémoglobine (exprimée en millionième de millionième de gramme) d'une hématie. On l'obtient par un calcul plus simple que peut laisser supposer sa définition en divisant le nombre de grammes d'hémoglobine par litre de sang par le nombre de millions de globules rouges par mm³.

On a ainsi chez l'homme normal :

Hémoglobine..... 150 g. par litre
Hématies..... 5.000.000 par mm³

Valeur globulaire : $\frac{150}{5} = 30$

Il est passé dans les habitudes de donner à cette valeur normale le chiffre 1 et d'en faire découler les autres (valeur globulaire relative).

Exemple :

Hémoglobine..... 100 g. par litre
Hématies..... 2.000.000 par mm³

Valeur globulaire absolue = 50

Valeur globulaire relative : $\frac{50}{30} = 1,66$

Ceci permet de classer les anémies en hypochromes et hyperchromes suivant que la valeur globulaire relative est inférieure ou supérieure à 1. Nous n'adopterons pas cette façon de s'exprimer qui n'est propre qu'à l'homme et nous parlerons toujours de valeur globulaire absolue. Chez un rat qui a, par exemple, 9 millions d'hématies par mm³ et 150 g. d'hémoglobine par litre, elle a pour valeur moyenne 16,6, mais ce taux varie très souvent.

Nous terminerons cet exposé de notre travail personnel au point de vue technique en relatant les essais infructueux de numération globulaire par photométrie que nous avons tentés étant donné le temps demandé par le nombre important de ces examens indispensables. On pouvait penser que l'énorme prépondérance des hématies par rapport aux leucocytes dans le sang, la petitesse de la taille des plaquettes et le jeu de la loi des grands nombres portant sur l'orientation des hématies par rapport à la direction d'un rayon lumineux traversant une suspension de sang pouvaient permettre une numération par mesure de la densité optique. En nous plaçant dans les conditions physiques les meilleures (interposition dans le photomètre d'un cylindre noir entre la cuve et la cellule photoélectrique pour éviter les rayons diffractés) et en soustrayant l'absorption propre de l'hémoglobine calculée par dosage séparé, nous avons effectué une centaine de déterminations et comparé les chiffres avec ceux obtenus par une numération directe. Nos conclusions rejoignent

celles de PONDER (129) dont nous ignorions le travail, datant de 1941. Nous avons trouvé une proportionnalité satisfaisante dans la plupart des cas normaux (en tenant compte qu'une excellente numération ne peut prétendre à moins de 5 à 8 % d'erreur) mais les résultats ont été entachés de fortes erreurs dans les cas d'anémie surtout avec anisocytose et poikilocytose. Cette méthode n'est pas à retenir et si nous avons relaté ces essais, c'est uniquement pour avertir ceux qui auraient l'intention d'étudier cette question des difficultés qu'elle soulève.

Ayant terminé l'exposé de nos recherches techniques préliminaires, nous allons aborder maintenant les expériences physiologiques.

-3-3-3-3-3-

CHAPITRE V

INFLUENCE DU PLOMB SUR L'HEMATOPOIESE

-:-:-:-:-

Paragraphe 1 - RÉSUMÉ BIBLIOGRAPHIQUE

Il y a plus d'un demi-siècle que nous connaissons les effets de l'intoxication de l'organisme par les dérivés du plomb et nous n'aurons pas la prétention de vouloir présenter la question même de façon incomplète. Bornons-nous à des rappels utiles à notre travail.

C'est très tôt que parmi les perturbations organiques dues à cette intoxication ont été individualisés les signes hématologiques. L'anémie saturnine est maintenant trop connue pour que nous nous y arrêtons longtemps : il suffira de se reporter à quelques mises au point récentes (2-20-91). Nous rappellerons seulement qu'elle offre des aspects variables suivant que l'intoxication est légère, moyenne ou grave. La présence dans le sang d'hématies à granulations basophiles (BEHREND-1892) a fait couler beaucoup d'encre. Etant donné leur fréquence, on a voulu en faire un signe de cette intoxication mais il n'a rien de spécifique car ces cellules ne sont que les témoins d'une anémie un peu sévère; de beaucoup de travaux à ce sujet, nous n'en citerons que quelques récents (91-20-135). La présence d'un taux élevé de réticulocytes dans le sang, leurs rapports avec ces hématies ponctuées ont été étudiés, il y a quelques années (17) en même temps que la porphyrinurie et la formation de l'hémoglobine (17-81).

La recherche du dépistage précoce de l'intoxication par le plomb a orienté les hématologistes du côté de la moëlle osseuse (11-62-82-185). Il semble qu'il n'en ait pas été retiré des conclusions fondamentales. Dans le domaine qui nous intéresse, nous relèverons plutôt la fréquence des perturbations gastroduodénales (14-156). Enfin, il est utile de rappeler que l'anémie saturnine réagit convenablement aux extraits de foie bien que ceux-ci ne semblent pas avoir d'action sur l'élimination du toxique (86), et également aux extraits gastriques (49).

L'expérimentation sur l'animal, bien qu'importante, ne nous retiendra guère plus longtemps. Après les études déjà anciennes de SABRAZES, MEILLERE, AUBERTIN, le travail de SPERANSKY & SKLIANSKAJA (150) sur le cobaye traité par de la céruse avait mis en évidence, outre

l'anémie, une importante réaction érythroblastique de la moëlle osseuse avec apparition de cellules plus jeunes de la lignée rouge, mal différenciées. NETTER (108), en 1934, avait confirmé la sensibilité de cet animal. Parmi les travaux plus récents, nous ne citerons que ceux d'ARYA LAYE (6), LESURE (91) et COUTURE (30).

Chez le rat, outre quelques remarques de NETTER (108) relatives à la résistance de cet animal, nous ne signalerons comme antérieures à nos expériences que celles de HORWITT & COWGILL (67).

Une étude beaucoup plus approfondie des altérations sanguines devait être faite sur le lapin par ARTHUS, LOURAU et DE SACY (4-5), puis par LOURAU (97-98-92-93-94-95-96), en vue de préparer les animaux à l'étude de l'action des extraits hépatiques. En 1942, les résultats pouvaient se schématiser ainsi : l'injection intraveineuse de 2 à 3 milligrammes par jour de plomb sous forme d'acétate pendant 2 à 3 semaines produit une anémie d'intensité moyenne (1,5 à 2 millions de chute globulaire), stable plusieurs mois après cessation des injections (47). La voie buccale est à rejeter par suite de la prédominance des troubles digestifs et du pourcentage élevé de mortalité non en rapport avec l'importance de l'anémie. Celle-ci est du type plastique et passe par deux phases : une chute du nombre des hématies à un taux bas suivi d'une phase de régénération spontanée puis une nouvelle chute modérée non aggravée par les injections et marquée par un affaiblissement de l'aptitude à la régénération (97).

Paragraphe 2 - HYPOTHESE DE TRAVAIL

Bien que l'anémie saturnine semblait n'avoir que de lointains rapports avec l'anémie pernicieuse, nous avons cependant entrepris des expériences basées sur le raisonnement suivant : il est incontestable que le plomb exerce sur l'hématopoïèse une action non négligeable : sa fixation en fortes quantités sur la moëlle osseuse, démontrée par FABRE & LEM (90) montre que les stigmates sanguins ne sont qu'un reflet d'une atteinte plus profonde des organes hématopoïétiques. D'un autre côté, il semble bien que le principe intrinsèque gastrique soit de nature enzymatique. Or, il est fréquent de voir les actions diastatiques fortement perturbées ou même inhibées par les sels de métaux lourds, dont le plomb, ceci même à faible concentration. N'est-il pas possible d'aborder le problème par cette voie ? Enfin, les sels de plomb exercent, à plus forte dose cette fois, une action caustique sur les muqueuses. Administrés de façon répétée par la voie orale, ne seraient-ils pas capables d'assumer sur les cellules du tube digestif responsables de l'élaboration du principe intrinsèque un rôle toxique et d'aliéner leur fonctionnement normal ? D'ailleurs, les désordres gastriques du saturnisme ne plaident-ils pas en faveur de cette hypothèse ?

Paragraphe 3 - TRAVAIL PERSONNEL

A) Protocole expérimental

Sur ces idées, nous avons entrepris chez le rat adulte une

série d'expériences d'intoxication saturnine par voie buccale. Notre désir primitif était d'administrer le toxique à doses assez faibles. La résistance des animaux, déjà signalée d'ailleurs (108-31), devait nous conduire à modifier cette règle de conduite.

Nous avons fait absorber le toxique sous forme d'acétate basique de plomb dissous de formule suivante :

acétate neutre de plomb.....300 grammes
Poudre d'oxyde de plomb..... 100 "
Eau distillée..... 700 "

L'acétate neutre de plomb renferme 54,63 % de plomb métallique
L'oxyde de plomb " " " 92,83 % " " "

La solution ci-dessus ayant une densité de 1,320, il s'ensuit que 1 cm³ correspond à 338 milligrammes de métal. Nous l'avons mélangée avec du saccharose et de la caséine de façon à faciliter son absorption car son goût est très désagréable. Les mangeoires des animaux ont été fixées solidement à la cage pour éviter qu'elles ne soient renversées et une plaque de métal glissée sous celle-ci pour vérifier l'absence de pertes. Les animaux ont reçu par ailleurs un régime normal : avoine, orge et eau à volonté, légumes verts tous les deux jours.

B) Résultats

Essais d'orientation avec des doses faibles de plomb.

Administration de 2 milligrammes de plomb par jour par 200 g. de poids corporel.

Tableau 5

RAT N° 1.- Poids au départ : 203 g.- Poids à la fin de l'expérience : 217 g.

Jour d'expérience	Numer. globul. (en milliers d'hématies par mm ³)	Hémoglobine (en g. par litre).	Valeur globulaire	Réticulocytes (pour 1.000 hématies)
1	8300	132	15,9	25
3	8700	126	14,5	31
8	7900	121	15,3	23
15	8500	130	15,3	21
21	8200	139	16,9	27
27	8900	135	15,2	19
31	8100	130	16,0	26
38	7900	126	15,9	21
42	8000	136	17,0	23

Tableau 6

RAT N° 2.— Poids au départ : 193 g. Poids à la fin de l'expérience : 184 g.

Jour d'expérience	Numér. globul. (en milliers d'hématies par mm ³).	Hémoglobine (en g. par litre).	Valeur globulaire	Réticulocytes (pour 1000 hématies).
1	9100	14,1	15,5	13
3	9000	13,4	14,9	11
8	8200	13,5	16,4	10
15	8800	13,9	15,7	15
21	9300	14,0	15,5	17
27	9300	13,3	14,3	14
31	8100	13,4	16,5	12
38	8900	14,2	15,9	18
42	8900	13,8	15,5	14

Tableau 7

RAT N° 3.— Poids au départ : 213 g.* Poids à la fin de l'expérience : 226 g.

Jour d'expérience	Numér. globul. (en milliers d'hématies par mm ³).	Hémoglobine (en g. par litre)	Valeur globulaire	Réticulocytes (pour 1000 hématies).
1	8700	14,0	16,1	14
3	8000	13,7	17,1	10
8	7900	13,8	17,4	16
15	8400	14,2	16,9	18
21	8900	13,9	15,6	13
27	8000	14,0	17,5	11
31	7900	13,9	17,6	11
38	8700	13,9	15,9	16
42	8500	14,3	16,8	16

Au bout de 42 jours (six semaines) nous avons sacrifié nos animaux car il était évident qu'ils ne s'anémiaient pas. Les variations des chiffres de globulie et d'hémoglobine consignés sur ces tableaux s'effectuent

dans les deux sens et se rencontrent très souvent physiologiquement. La valeur globulaire n'offre aucun intérêt. Quant aux modifications des chiffres de réticulocytes, elles sont également dans les limites physiologiques surtout en tenant compte de ce que, à cette époque, nous n'attachions pas une importance particulière à la réduction au minimum des volumes de prises de sang, réduction destinée à éviter les crises réticulocytaires spontanées, notion que nous développerons plus tard.

Nous avons prélevé la moëlle osseuse des animaux sacrifiés. Comme nous nous y attendions, nous n'avons remarqué aucun fait notable : les aspects étaient normaux. Devant cet échec, nous avons modifié notre manière d'opérer sur une nouvelle série d'animaux. Nous avons commencé par des doses assez faibles et augmenté celles-ci progressivement suivant le cas. Cette expérimentation a été pour nous une surprise car nous avons dû avoir recours à des doses de plomb excessivement élevées pour arriver à anémier nos animaux. Nous nous sommes posé la question de la destinée de ce métal car il était tout de même anormal que les organes témoignassent d'une telle apathie vis-à-vis du toxique. Sans entreprendre une étude toxicologique sortant du cadre de notre travail, nous avons compris rapidement que l'immense majorité du plomb était éliminé par les matières fécales. Il suffisait de délayer celles-ci dans un peu d'eau, de décolorer au charbon et de filtrer pour obtenir les réactions analytiques les moins sensibles du plomb (formation de Cl_2Pb ou de I_2Pb) avec une netteté indiscutable. Nous allons voir d'ailleurs dans les tableaux qui vont suivre que cette résistance est variable d'un animal à l'autre.

Tableau 8

RAT N° 4.- Poids au départ : 250 g. Poids en fin d'expérience : 213 g.

...../.....

Jour d'expérience	Numer. globul. (en milliers d'hématies par mm ³).	Hémoglo- bine (en g. par litre	Valeur globulaire	Réticulocytes (pour 1000 hématies).	Plomb administré chaque jour (en mg. par 200 g. de pds. corpo- rel).
1	8300	142	17,1	17	3
2	7800	139	17,8	1	3
3	8000	137	17,1	12	4
4	7600	138	18,1	14	4
5					9
6					9
7					9
8	7100	135	19,0	19	9
9					12
10					12
11	7000	135	19,3	17	12
12					20
13					20
14	6500	130	20,0	29	20
15					20
16	6700	127	18,9	33	20
17					25
18					25
19	6100	116	19,0	28	25
20					30
21	5900	110	18,6	34	30
22	Mort				

Tableau 9

RAT N° 5 - Poids au départ : 210 g.- Poids à la fin de l'expérience : 165 g.

Jour d'expérience	Numer. globul- (en milliers d'hématies par mm ³).	Hémoglo- bine (en g. par litre)	Valeur globulaire	Réticulocytes (pour 1000 hématies)	Ploomb administré chaque jour (en mg. par 200 g. de pds.corporel).
1	8900	131	14,7	16	5
2					5
3	8300	127	15,3	2	15
4					15
5	7500	130	17,3	16	15
6					25
7					25
8	8500	131	15,4	48	25
9					75
10	9000	137	15,2	32	75
11					100
12					100
13	7300	125	17,1	31	100
14					100
15					100
16	7100	120	16,9	37	100
17					100
18					100
19	6500	122	18,7	33	100
20					150
21					150
22					150
23					150
24	6000	117	19,5	40	150
25					150
26					150
27	5400	115	21,2	18	150
28					150
29					150
30	5100	111	21,7	14	150
31					150
32					150
33 (mort)	4900	105	21,4	52	150

Tableau 10

RAT N° 6 - Poids au départ : 185 g.- Poids à la fin de l'expérience : 147 g.

Jour d'expérience	Numér. globul. (en milliers d'hématies par mm ³).	Hémoglobine (en g. par litre).	Valeur globulaire	Réticulocytes (pour 1000 hématies)	Picab administré chaque jour (en mg. par 200 g. de pds corporel).
1	7900	140	17,7	21	50
2					50
3	6200	122	19,6	19	50
4					50
5	5600	101	18,0	26	50
6					50
7					50
8	4900	85	17,4	20	50
9					50
10					50
11	7500	117	15,6	41	50
12	7800	120	15,3	45	100
13					100
14					100
15	6100	112	18,3	37	100
16					100
17					100
18	5000	110	22,0	31	100
19					100
20					100
21	4200	92	21,9	29	100
22					100
23					100
24	3900	81	20,5	63	100
25	mort				

Tableau 11

RAT N° 7 - Poids au départ : 210 g.- Poids à la fin de l'expérience : 173 g.

Jour d'expérience	Numér. globul. (en milliers d'hématies par mm ³).	Hémoglo- bine (en g. par litre).	Valeur globulaire	Réticulocytes (pour 1000 hématies).	Plomb adminis- tré chaque jour (en mg. par 200 g. de pds. corporel).
1	8200	113	17,4	12	50
2					50
3	7000	122	17,4	14	50
4					50
5	5800	96	16,5	19	50
6					50
7	7500	113	15,0	33	50
8	7300	120	16,4	x	150
9	7900	120	15,2	31	150
10					150
11	5600	107	19,1	45	100
12					100
13	4100	101	24,6	51	100
14	3900	97	24,8	81	100
15 (mort)	4000	91	22,7	86	100

Tableau 12

RAT N° 8 - Poids au départ : 193 g. Poids à la fin de l'expérience : 156 g.

Jour d'expérience	Numér. globul- (en milliers d'hématies par mm ³).	Hémoglo- bine (en g. par litre).	Valeur globulaire	Réticulocytes (pour 1000 hématies).	Plomb admi- nistré cha- que jour (en mg. par 200 g. de pds corporel)
1	8300	137	16,5	11	50
2					50
3	7500	129	17,2	19	50
4					100
5					100
6	7100	130	18,3	31	100
7					100
8					100
9	6200	119	19,2	x	100
10					100
11					100
12	5100	109	20,2	47	100
13					100
14					100
15	4300	97	22,5	41	100
16					100
17	3600	93	25,8	63	100
18					100
19	mort				100

Tableau 13

RAT N° 9 - Poids au départ : 197 g.- Poids en fin d'expérience : 161 g.

Jour d'expérience	Numér. globul. (en milliers d'hématies par mm ³).	Hémoglobine (en g. par litre).	Valeur globulaire	Réticulocytes (pour 1000 hématies).	Plomb administré chaque jour (en mg. par 200 g. de pds corporel).
1	9000	11,8	16,4	19	50
2					50
3					50
4	7500	125	16,6	14	50
5					100
6					100
7	7800	120	15,3	27	100
8					100
9					100
10	7500	120	16,0	31	100
11					100
12					100
13	6000	117	19,5	26	100
14					100
15	5100	110	21,5	39	100
16					100
17	4900	103	21,0	43	100
18					100
19					100
20 (mort)	5000	99	19,8	49	100

C) Conclusions

Il ne nous a pas semblé utile de multiplier ces expériences qui ont été surtout faites dans un but qualitatif, en l'espèce l'examen de la moëlle osseuse prélevée après la mort de l'animal, et dont nous parlerons plus loin. Une expérience physiologique faite sur six animaux ne permet pas de tirer des conclusions très générales mais nous pouvons cependant faire quelques constatations.

En premier lien, la résistance des animaux apparaît comme très variable, fait qui avait déjà été signalé avant nous pour le la-

pin traité par voie intraveineuse (97). Il suffit de comparer les rats 4 et 5 pour en être persuadé.

Les quantités de plomb administrées sont extraordinairement élevées si on les compare au poids du corps. Il semble bien que la majeure partie soit précipitée et rendue inactive au cours du transit digestif : l'élimination fécale le prouve. Cette quasi annihilation de l'absorption explique que la voie intraveineuse, qui conditionne une élimination urinaire (en général réduite et prolongée), exige des quantités de métal infiniment plus faibles. L'anémie est toujours marquée à la phase terminale mais nous n'avons jamais pu reproduire les chiffres de globules de 2.300.000 signalés par NETTER (108).

Il est impossible de fixer une évolution régulière parmi ces animaux qui ont été traités par des doses croissantes; certains ont été commencés avec des quantités faibles (5mg) et d'autres fortes (50 mg.) Les deux procédés n'ont pas influé sur la marche de l'anémie qui peut prendre deux types :

- 1) ou continu, se poursuivant régulièrement jusqu'à la mort de l'animal.
- 2) ou avec une régénération spontanée et transitoire (rats 5-6 et 7) sans que l'administration du toxique soit arrêtée, régénération suivie d'une chute globulaire définitive et mortelle.

Le taux d'hémoglobine est toujours bas en fin d'expérience mais il peut remonter au cours des régénérations spontanées. La valeur globulaire terminale est toujours plus élevée qu'au début. L'anémie est donc hyperchrome mais les régénérations sont plutôt du type hypo-chrome, la remontée globulaire étant proportionnellement plus forte que celle de l'hémoglobine.

Quant à l'examen du taux de réticulocytes, il engage à une prudente réserve, en dehors du fait constant de l'augmentation à la phase terminale. Son interprétation est délicate car, si l'on fait intervenir l'hypothèse d'un dernier effort du système hématopoïétique pour essayer de maintenir une globule normale, il devient malaisé d'expliquer alors certains chiffres élevés au cours des régénérations (rat 6).

Terminons ces quelques remarques en disant que des examens de sang ont permis de remarquer les classiques anisocytose, poikilocytose et polychromatophilie. Les normoblastes n'ont jamais été nombreux dans le sang circulant et, de plus, inconstants. Quant à la recherche des hématies à granulations basophiles, elle a été le plus souvent négative, constatation en accord avec celle de HORWITT & COWGILL (67). Nous les avons même vu chez le rat 6 disparaître le 21ème jour, où l'anémie était arrivée à 4.200.000, alors qu'elles existaient le 18ème jour avec un chiffre de numération globulaire de 5.000.000.

Les constatations autopsiques ne seront évoquées que dans le cadre de ce qui touche à cette étude :

La muqueuse digestive depuis l'oesophage est gris noirâtre (formation de sulfure de plomb à partir de dérivés sulphydrilés biologiques ?) ou blanche (protides précipités par le métal ou Cl_2Pb dans l'estomac ?). A côté de zones de sclérose, on note une certaine friabilité des parois avec parfois présence de zones inflammatoires ou même d'ulcérations, phénomène déjà décrit par LESURE (91) chez le cobaye.

Le foie est gros avec des zones décolorées traduisant vraisemblablement des lésions dégénératives.

La moëlle osseuse des animaux, prélevée de suite après la mort afin d'éviter la lyse cellulaire post-mortem, offre un aspect pratiquement constant. On note une prolifération des érythroblastes surtout polychromatophiles et orthochromatiques mais en plus une augmentation du taux des proérythroblastes, éléments rares dans la moëlle du rat normal. Il n'existe pas de limite tranchée entre ceux-ci et les érythroblastes basophiles : les formes successives de l'évolution sont assez faciles à observer. La régression de la maturation s'arrête là : jamais nous n'avons rencontré un élément pouvant laisser suspecter une réaction mégaloblastique.

Nous n'avons pas jugé utile de poursuivre beaucoup plus longtemps ces expériences. Nous avons essayé de créer une réaction toxique brutale avec sidération de la moëlle osseuse par des quantités de plomb encore plus fortes. Trois animaux ainsi traités, dont nous ne rapporterons pas l'évolution hématologique pour ne pas surcharger cet exposé, sont morts dans des délais de 7 à 12 jours. Les anémies étaient moins importantes que celles que nous venons de signaler/ et de plus la moëlle osseuse ne montrait qu'une réaction érythroblastique intense mais sans proérythroblastes.

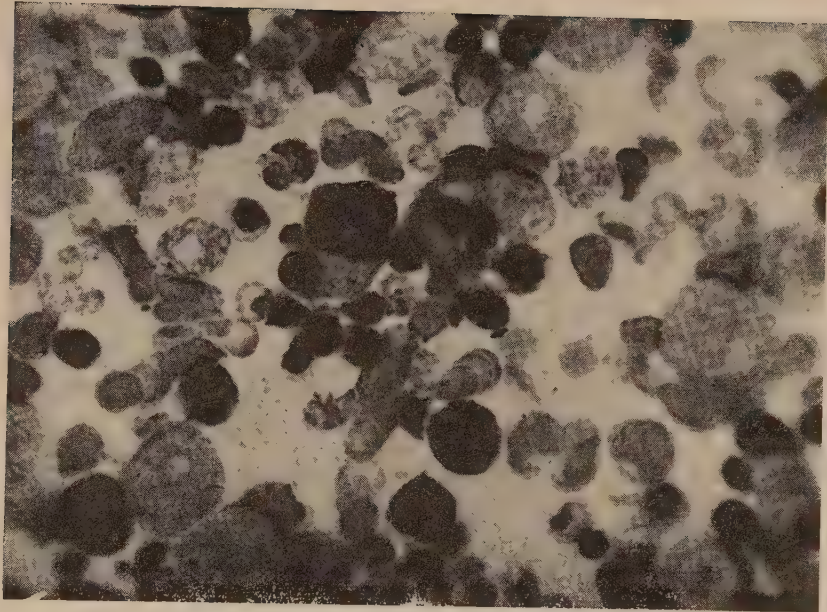
Le facteur temps pouvant intervenir dans l'immaturation, nous avons opéré en sens inverse. Trois autres animaux ont été traités avec des doses moyennes (intermédiaires à celles des rats 1, 2 et 3 d'une part et du rat 4 d'autre part) ? Nous les avons ainsi prolongés jusque 62 jours mais les médallogrammes n'ont pas révélé d'éléments plus jeunes que le proérythroblaste.

L'expérimentation que nous venons de relater infirme en partie les hypothèses que nous avons formulées dans ce chapitre. S'il est intéressant de noter la régression de la maturation des éléments de la lignée rouge, il faut bien se rendre à l'évidence : nous n'avons certainement pas touché au principe intrinsèque. Il semble infiniment plus probable de penser que l'anémie saturnine est une anémie par action toxique directe sur la moëlle osseuse. Par quel mécanisme ? Nous ne le connaissons pas mais nous pensons actuellement que l'anémie au plomb et l'anémie pernicieuse sont deux choses différentes.

Les travaux récents de LOURAU (92-93-94-95-96) sur le lapin traité par injection intraveineuse d'acétate neutre de plomb en vue du titrage du facteur antipernicieux ont permis de fixer avec précision l'évolution de l'anémie : d'abord microcytaire et hypochrome, réparation apparente, puis anémie hyperchrome et persistante (95). La spécificité des réponses des animaux à l'injection d'extraits hépatiques antipernicieux ainsi que des considérations d'ordre physique et chimique ont conduit cet auteur à conclure à l'identité du principe antipernicieux et du facteur hépatique actif dans l'anémie saturnine (93). La chose n'est nullement impossible : ce serait avec l'hyperchromie le seul point commun entre ces deux affections hématoLOGIQUES.

L'abord du problème par cette voie nous ayant apporté des faits intéressants mais de suite limités, nous avons abandonné les anémies toxiques pour nous intéresser à un aspect beaucoup plus physiologique de la question. La maturation hématique semble en effet dépendre de facteurs du type vitaminique. N'était-ce pas se placer beaucoup plus au coeur du sujet que d'étudier certaines carences ? L'acide panthothénique, facteur nouvellement découvert, devait nous donner l'occasion d'apporter notre contribution à l'étude de son influence sur l'hématopoïèse.

-3-3-3-3-3-3-3-3-



Anémie au plomb
Moelle osseuse [× 930]

CHAPITRE VI

L'ACIDE PANTOTHENIQUE ET L'HEMATOPOIESE

-:-:-:-:-

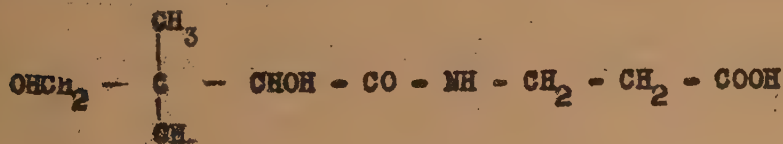
Paragraphe 1 - RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE

Il nous est difficile d'exposer la question des rapports de l'acide pantothénique et de la maturation des globules rouges sans commencer par quelques rappels sur cette vitamine de découverte relativement récente. Les travaux qu'elle a suscités sont si nombreux que les résumer, même simplement, nous conduirait à des développements qui n'ont pas leur place ici. Aussi renverrons-nous aux nombreuses monographies qui s'y rapportent et particulièrement à une des dernières en date, celle de VELLUZ (162).

L'origine déjà ancienne d'un ensemble de recherches où domine le nom de WILLIAMS remonte à la découverte du bios (WILDIERS), "facteur de croissance" pour la levure de bière. Il semble bien actuellement que la définition biologique du bios corresponde à l'activité manifestée par l'acide pantothénique sur ce microorganisme. Celui-ci ne devait pas être le seul à exiger cette substance pour son développement : beaucoup de bactéries sont dans le même cas et, parmi celles-ci, le *Streptobacterium plantarum* mérite une place spéciale car il a servi à définir une unité.

Chez les animaux, les expérimentateurs mirent assez vite en évidence le rôle vitaminique de l'acide pantothénique et, en 1939 était reconnue l'identité de ce corps avec deux autres principes de nature inconnue appelés jusque là "facteur du filtrat" et "facteur antidermatique des poules". L'étude physiologique chez le poulet, le chien, le rat, la souris etc....permet de mettre en évidence une action surtout nette sur la croissance et les propriétés anticancéreuses qui sont maintenant connues de tous.

La diffusion universelle de l'acide pantothénique n'a cependant pas facilité son isolement (WILLIAMS) qui s'est avéré excessivement laborieux par suite de l'absence de test facile d'identification et de titrage. Actuellement, sa constitution est parfaitement connue et vérifiée par synthèse.



Ce schéma étant tracé, nous allons voir maintenant les raisons qui nous ont fait penser que ce corps pouvait avoir une influence dans l'hématopoïèse et la maturation des hématies (124).

Paragraphe 2 - HYPOTHESE DE TRAVAIL

L'acide pantothénique est une "vitamine de croissance" active surtout sur les microorganismes jeunes à faible concentration, conditionnant la multiplication continue, surtout lorsque celle-ci est importante. Or, la moëlle osseuse offre un exemple d'un tissu en continu renouvellement étant donné la destruction concomitante des éléments cellulaires du sang circulant. L'acide pantothénique, produit biologique, n'intervient-il pas dans ce phénomène complexe ? La maturation des cellules jeunes n'est-elle pas influencée par lui ? Ne serait-il pas possible d'entrevoir entre le principe extrinsèque et lui quelques corrélations ?

En fait, les expériences d'avitaminose réalisées chez le chien (138-135) et le porc (172) insistent sur des phénomènes gastro-intestinaux vérifiés à l'autopsie par la présence de petites ulcérations, avec en plus une dégénérescence graisseuse du foie, banale en vérité mais qui ne manque pas souvent dans l'anémie pernicieuse. Pour en terminer avec quelques considérations anatomiques et physiologiques au cours des carences, on note chez les animaux un comportement spécial : la marche est troublée et ce phénomène correspond à des modifications dans la sphère nerveuse telles des lésions de la moëlle épinière chez le poulet (122-143). Or, nous avons attiré l'attention au début de ce travail sur la possibilité de syndromes dits neuroanémiques répondant anatomiquement à une dégénérescence des fibres longues des cordons postérieurs.

La possibilité d'entrevoir quelques rapports entre l'acide pantothénique et l'anémie de Biermer peut se poursuivre. En effet, si nous devons trouver le principe extrinsèque dont nous avons besoin dans notre alimentation, il faut ajouter aux sources riches (foie, chair musculaire) les végétaux, car il ne semble pas exister un pourcentage particulièrement élevé de biermeriens parmi les végétariens. Or l'acide pantothénique est répandu partout, comme son nom l'indique d'ailleurs. Cette diffusion marque cependant quelques préférences. Si on examine les tables dressées par JUKES (76) sur la répartition de cette vitamine dans certains produits naturels, nous voyons que viennent nettement en tête comme sources excellentes la levure de bière sèche (200 % par gramme) et le foie de mammifères (180 % par gramme de produit desséché), deux substances dont on connaît bien les propriétés antianémiques. D'ailleurs, l'isolement de l'acide pantothénique par WILLIAMS a été opéré à partir du foie. Nous ajouterons que les thermostabilité, solubilité dans l'eau et insolubilité dans l'alcool et l'éther sont des propriétés communes au principe extrinsèque et à l'acide pantothénique.

Ces considérations ne peuvent manquer de frapper. Mais, les

expériences de PFALTZ (119) apportent un autre fait dont on ne peut minimiser l'importance. Cet auteur, après avoir carencé des jeunes rats en acide pantothenique constate que l'administration ultérieure de ce corps se traduit, en dehors d'une accélération de la croissance et d'un gain de poids, par des poussées de réticulocytes dont le chiffre passe de 13 à 34 pour 1000 en moyenne.

Paragraphe 3 - TRAVAIL PERSONNEL

Les considérations que nous venons de voir nous ont incité à expérimenter l'acide pantothenique. Travaillant en même temps la question du titrage du facteur antipernicieux que nous verrons plus loin, nous avons arrêté notre choix sur l'étude de la crise réticulocytaire obtenue chez le rat normal. Nous savions déjà à cette époque que l'administration du produit à essayer doit se faire en une seule fois et être relativement importante par rapport au poids de l'animal. Dans ce cas, on note, entre le 7ème et le 12ème jour qui suivent, une crise réticulocytaire variable suivant que le produit est injecté ou ingéré, variable suivant les animaux surtout si on emploie des doses un peu fortes (absence de réponse à côté de réponses nettes). On obtient aussi des chiffres de réticulocytes de l'ordre de 50 %⁰⁰ et exceptionnellement de 100 %⁰⁰. Nous discuterons plus tard de la valeur de ce test; contentons-nous de dire pour le moment qu'il est un des moins mauvais et que l'essai de la crise réticulocytaire sur l'animal normal doit toujours être fait à titre de vérification de l'activité antipernicieuse d'un produit quelconque.

A) Protocole expérimental

Nous avons essayé l'action de l'acide pantothenique sur le taux des réticulocytes chez le rat (125). Nous avons utilisé un groupe de 19 animaux de 100 ou 200 grammes étant donné que les réponses peuvent varier suivant que l'animal est jeune ou adulte. Parmi ceux-ci, cinq ont servi de témoins pour nous rendre compte des variations spontanées du taux des réticulocytes dans le sang circulant au cours de l'expérience. Les animaux "essais" ont reçu soit par injection sous-cutanée, soit par voie orale, une quantité d'acide pantothenique égale à 0,8 milligramme pour 100 grammes de poids corporel, sous forme de pantothénate de calcium dextrogyre. Nous leur avons donné le régime habituel et effectué des numérations de réticulocytes toutes les 48 heures pendant les 12 jours qui ont suivi l'administration du produit. Les résultats de numération des hématies réticulo-filamenteuses sont consignés dans le tableau ci-dessous :

B) Résultats.-

Tableau 11

		Rats	Réticulocytes pour 1000 hématies								
			jours								
			1	4	6	8	10	12	14	16	18
Rats témoins	Jeunes ani- maux; poids env. 100 g.	I....	18	15		17	24	19	21	17	14
		II....	11	11		9	10	13	15	12	15
	Animaux a- dultes; poids env. 200 g.	III....	9	15		13	8	14	12	11	11
		IV....	12	16		10	15	15	13	10	12
		V....	14	18		15	12	13	16	12	12
Rats essais Injec- tion	Jeunes ani- maux	VI....	9	10	injec- tion s/ cutanée	39	33	44	22	23	33
		VII....	11	12		12	28	33	19	28	19
		VIII..	9	10		10	22	37	19	32	17
	Animaux adultes	IX....	15	13	de 800 γ	13	29	25	41	38	20
		X....	10	12	d'ac.pan-	14	30	63	29	16	13
		XI....	15	17	tothéni-	35	31	98	60	63	35
		XII....	11	9	que p.	10	29	78	33	23	17
					100 g. de pds. corps.						
	Jeunes ani- maux	XIII..	9	12	inges- tion de	23	36	76	59	50	30
		XIV....	11	14	800 γ d'	21	61	154	160	160	74
		XV....	12	12	ac.pan-	21	46	52	55	72	65
Inges- tion	Animaux adultes	XVI....	8	8	tothéni-	9	14	58	42	30	25
		XVII..	10	9	que p.	8	29	58	55	25	25
		XVIII.	19	18	100 g. de	11	33	19	24	33	30
		XIX....	9	10	pds. o corps.	10	32	106	25	11	11

C) Interprétation et conclusions.-

Les animaux témoins montrent des variations minimales du taux de réticulocytes du fait des précautions que nous prenons pour limiter les minimales hémorragies consécutives aux prises de sang qui peuvent

entraîner des petites crises réticulocytaires.

Plusieurs constatations se dégagent de l'examen des chiffres obtenus avec les animaux essais :

a) Qualitativement, il se produit une crise réticulocytaire en général assez précoce. Le classique maximum de crise au 10^{ème} jour représente en fait une notion un peu trop absolue et il est plus sage d'envisager les réponses entre le 7^{ème} et le 12^{ème} jour. D'ailleurs, il n'est pas interdit de penser que l'administration d'un produit chimique pur se traduise par une résorption plus rapide que celle d'un extrait hépatique, ce fait entraînant une réponse plus précoce.

b) Quantitativement, nous établirons quatre subdivisions :

- 1) Jeunes animaux injectés : crise réticulocytaire de faible amplitude.
- 2) Animaux adultes injectés : réponses beaucoup plus nettes atteignant des valeurs comparables à celles obtenues avec les meilleurs extraits hépatiques.
- 3) Absorption chez les jeunes animaux : deux crises nettes et une crise extraordinairement élevée (rat 14).
- 4) Absorption chez les animaux adultes : une réponse faible, trois crises nettes dont une atteignant 106 pour 1000.

Il faut remarquer la grande variabilité des réponses. Nous en verrons plus tard les causes, en rapport avec l'âge des animaux, la voie d'introduction et la quantité du produit administré. Cette expérience qui ne prétend qu'à des résultats qualitatifs a cependant une portée qui n'est pas négligeable.

En premier lieu, il faut souligner que ces résultats ont été obtenus avec 0,8 milligramme d'acide pantothénique pour 100 g. de poids corporel. C'est là une dose extrêmement faible. Quant aux crises obtenues, certaines dépassent de loin celles qui peuvent être enregistrées avec les extraits hépatiques. Il semble donc évident que l'acide pantothénique exerce sur les organes hématopoïétiques une action nette. Nul ne peut songer à admettre qu'une substance susceptible de provoquer semblables crises réticulocytaires puisse être sans rapports avec l'érythropoïèse. Pour fixer les idées sur ce point, restait à opérer dans le sens inverse, c'est-à-dire effectuer une investigation hématologique des animaux en carence pantothénique.

Paragraphe 4 - LES CARENCES PANTOTHENIQUES EXPERIMENTALES ET L'HEMATOPOIESE.

Nous avons déjà signalé les travaux qui avaient été effectués

sur le chien (138), le porc (172) et le poulet (122-143). L'étude que nous avons faite des carences pantothéniques chez le rat (126) rentre dans un cycle d'expérimentation effectué également par d'autres. Nous signalerons à ce propos le travail de DAFT, KORNBERG, ASHBURN, SEBRELL & BAKERMAN (35) datant de 1945 et relatif à des carences non totales mais partielles et qui montre au point de vue hématologique des perturbations tant du côté de la lignée blanche que de la lignée rouge. A peu près à la même époque, CARTER, MAC FARLANE, O'BRIEN & ROBB-SMITH (26) étudient le comportement des jeunes animaux de 40 à 50 grammes recevant le régime purifié suivant :

saccharose ou amidon de riz.....	70 %
caséinogène.....	20 %
mélange salin.....	5 %
huile de foie de morue.....	4 %
Agar.....	1 %

additionné des vitamines suivantes, par jour :

aneurine.....	20 γ
riboflavine.....	40 γ
pyridoxine.....	40 γ
choline.....	500 γ

Ils obtiennent chez 60 % des animaux : anémie, leucopénie et hyperplasie médullaire. L'addition d'acide pantothénique au régime n'empêche l'apparition d'une autre anémie plus tardive et de signification inconnue selon les auteurs, mais nous verrons plus tard en parlant de la question complexe de l'acide folique qu'il s'agit vraisemblablement d'une carence de ce principe, bien qu'il puisse être synthétisé par les bactéries intestinales.

2) Protocole expérimental -

Les carences pantothéniques que nous avons effectuées chez le rat diffèrent sensiblement de celles que nous venons de voir, au point de vue qualitatif. En premier lieu, et sans avoir connaissance de ces travaux qui ne nous sont parvenus que plus tard, nous nous sommes adressé à des animaux adultes. Nous avons utilisé à la place de lipide un acide gras pur, l'acide oléique. Notre régime comportait du saccharose comme source d'hydrate de carbone. Enfin, l'importance classique des acides nucléiques dans le métabolisme des noyaux cellulaires nous a incité à remplacer la classique caséine par une autre source d'azote. En effet, la caséine renferme un certain nombre de dérivés organiques phosphorés (esters phosphoriques de la sérine) susceptibles d'intervenir dans la synthèse des nucléoprotéides. Nous avons choisi la lactalbumine du lait de vache mais la méthode d'enlèvement des vitamines hydrosolubles décrite par ELVEHJEM, KOEHN & OLESON (50) pour la caséine n'est pas applicable à la lactalbumine. Nous avons alors utilisé un

procédé personnel dérivé d'anciennes méthodes classiques (114-131).
Il consiste en une ébullition de deux heures d'un mélange

(lactalbumine..... 1 kilogramme
(eau acétique à 2 % 10 kilogrammes.

Ce chauffage est suivi d'une filtration sur un linge fin. Le produit solide, exprimé, est lavé lentement avec 50 litres d'eau ordinaire, exprimé de nouveau puis mis à l'étuve à 100° pendant 36 heures. Nous avons vérifié au cours de travaux différents de celui-ci que le produit ainsi obtenu était satisfaisant. D'ailleurs, il ne faut pas avoir la prétention de priver intégralement les protides de vitamines par des procédés chimiques : CANNON, BOUTWELL & ELVEHJEM (24) en ont donné la preuve. Du moins, l'immense majorité de celles-ci sont détruites ou entraînées et les produits purifiés que les chercheurs emploient habituellement suffisent bien aux expérimentations.

Comme mélange salin, nous avons utilisé celui de BERTRAND & BENZON (15) dont nous rappelons la formule :

	<u>grammes</u>
Laotate de calcium.....	2,60
Phosphate monopotassique	0,30
Phosphate disodique cristallisé.....	0,75
Chlorure de calcium anhydre.....	0,10
Sulfate de magnésium cristallisé.....	0,25
Alun ferrico-ammoniacal...	0,02
Alun alumino-potassique...	0,004
Fluorure de sodium.....	0,004
Sulfate de cuivre.....	0,002
Sulfate de manganèse.....	0,002
Iodure de potassium.....	0,0005
Sulfate de zinc.....	0,0100

Ce mélange comporte du fer, du cuivre et du manganèse en quantités suffisantes pour ne pas avoir à craindre des troubles dans la formation de l'hémoglobine.

Quantitativement, les 10 animaux en expérience ont reçu à volonté le régime de base suivant :

Saccharose.....	180 g.
Lactalbumine.....	60 g.
Mélange salin.....	15 g.
Papier filtre.....	quantité suffisante.

Chaque animal recevait en plus chaque jour, par 100 g. de poids corporel :

Acide oléique.....	0,2 cm ³	(*)
Vitamine A.....	60 unités internationales	
" D.....	15 "	"
" K.....	3 γ	
" B 1.....	10 γ	
" B 2.....	20 γ	
" B 6	20 γ	
" PP	500 γ	
Choline.....	3 milligrammes.	

Les rats ayant été maintenus dans ces conditions jusqu'à la mort, nous avons noté chez la plupart d'entre eux une épilation du museau commençant en général vers la 10^{ème} semaine et une rougeur de la peau en relation avec l'excrétion de porphyrines, phénomène en rapport avec la carence pantothénique. La spécificité de ce dernier signe a d'ailleurs été mise en doute (134). Enfin, 50 % des animaux accusent au cours de la dernière semaine une paralysie du train postérieur. Les résultats sont consignés dans les tableaux suivants :

B) Résultats.-

Comme précédemment, les chiffres de numération globulaire sont exprimés en milliers d'hématies par mm³, l'hémoglobine en grammes par litre, le taux de réticulocytes pour 1000 hématies et le poids en grammes. Ces données sont valables jusqu'à la fin de ce travail.

.... /

(*) Nous avons remarqué par la suite qu'il était possible de remplacer cet acide par une quantité équivalente d'oléine.

Tableau 15

RAT N° 1

Jour d'expérience	Poids	Numér. globul.	Hémoglobine	Valeur globulaire	Réticulo-cytes
1	212	11500	119	10,3	12
16	202	10500	121	11,5	14
23	196	9500	115	12,1	17
31	180	12500	135	10,8	29
39	186	10500	130	12,4	21
48	190	9000	115	12,7	11
56	195	9500	121	12,7	9
63	187	8500	115	13,5	8
71	186	9500	110	11,5	14
78	189	9000	116	12,9	12
86	178	8700	112	12,8	14
89	181	8200	115	14,0	15
91	170	8500	110	12,9	11
95 mort	175	8500	111	13	14

Tableau 16

RAT N° 2

Jour d'expérience	Poids	Numér. globul.	Hémoglobine	Valeur globulaire	Réticulo-cytes
1	300	10500	122	11,6	18
17	274	10000	117	11,7	15
24	280	9000	115	12,9	19
32	268	12000	138	11,5	32
49	247	10000	125	12,5	21
59	232	9500	121	12,7	16
71	229	8500	120	14,1	x
83	225	8000	117	15,6	11
88	220	7800	117	15,0	9
90	215	8000	120	15,0	13
92	210	8500	116	13,6	16
94 mort					

Tableau 17RAT N° 3

Jour d'expérience	Poids	Numér. globul.	Hémoglobine	Valeur globulaire	Réticulocytes
1	102	8500	126	14,1	14
19	100	9000	120	13,3	18
37	95	9500	133	14,0	29
49	101	8000	129	16,1	23
61	110	7500	126	16,8	17
75	115	8200	121	14,7	19
85	111	7700	115	14,9	17
92	113	7000	119	17,0	15
100	110	6500	114	17,5	10
103	107	6000	113	18,8	12
105	mort				

Tableau 18RAT N° 4

Jour d'expérience	Poids	Numér. globul.	Hémoglobine	Valeur globulaire	Réticulocytes
1	120	8200	116	14,1	17
19	125	9000	120	13,3	24
35	119	8500	117	13,7	19
48	113	8000	112	14,0	13
60	110	7200	105	14,6	18
72	99	7500	102	13,6	14
84	103	6500	99	15,2	11
89	101	5500	101	18,3	11
92	97	5000	100	20,0	15
96 mort	96	5000	97	19,4	21

Tableau 19

RAT N° 5

Jour d'expérience	Poids	Numer. globul.	Hémoglobine	Valeur globulaire	Réticulo-cytes
1	250	9500	135	14,2	15
16	249	x	x	x	13
32	259	9000	130	14,4	16
47	248	9800	137	13,9	x
63	235	8800	129	14,6	14
75	219	9000	131	14,6	19
81	225	9000	x	x	23
89	213	8500	127	14,9	17
97	209	8500	123	14,4	x
106	215	7500	120	16,0	20
110	210	7500	120	16,0	21
111		mort			

tableau 20

RAT N° 6

Jour d'expérience	Poids	Numer. globul.	Hémoglobine	Valeur globulaire	Réticulo-cytes
1	245	9300	129	13,8	18
15	239	9500	132	13,8*	24
35	241	8800	x	x	x
49	247	8500	127	14,9	19
70	230	9500	134	14,1	27
85	215	9000	127	14,1	19
90	201	8800	x	x	17
93	193	9200	121	13,1	23
96	195	8500	115	13,5	23
99	187	7900	117	14,8	12
102	185	8100	113	13,8	20
103		mort			

Tableau 21

RAT N° 7

Jour d'expérience	Poids	Numer. globul.	Hémoglobine	Valeur globul.	Réticulo-cytes
1	260	8900	137	15,3	16
17	255	8500	131	15,4	19
35	252	8500	129	15,1	16
48	245	7800	127	16,2	11
60	237	7200	127	17,6	12
72	221	7000	125	17,8	17
84	217	6500	123	18,9	15
90	211	7000	121	17,3	13
93	207	6200	125	20,1	17
95	202	6000	123	20,5	19
97	mort				

Tableau 22

RAT N° 8

Jour d'expérience	Poids	Numer. globul.	Hémoglobine	valeur globul.	Réticulo-cytes
1	260	8200	134	16,3	31
15	255	8500	134	15,7	27
32	251	7900	130	16,4	30
46	247	8300	131	15,7	26
60	240	8700	137	15,6	21
70	231	9000	135	15,0	19
80	213	8200	132	16,1	22
85	206	8000	130	16,2	17
92	195	8700	129	14,8	19
95	190	8700	125	15,4	18
98 mort	197	8500	122	14,3	15

Tableau 23

RAT N° 9

Jour d'expérience	Poids	Numer. globul.	Hémoglobine	Valeur globulaire	Réticulo-cytes
1	250	9500	135	14,2	25
17	255	9800	135	13,7	23
35	256	x	x	x	17 u
49	245	9000	127	14,1	14
64	227	9500	123	12,9	17
80	213	x	x	x	x
90	200	8900	121	13,6	17
96	191	8500	117	13,7	12
99	186	x	x	x	17
102	181	9500	125	13,1	19
105	175	9500	122	12,8	21
110 mort	170	10000	120	12,0	22

Tableau 24

RAT N° 10

Jour d'expérience	Poids	Numer. globul.	Hémoglobine	Valeur globulaire	Réticulo-cytes
1	215	8600	141	16,3	17
17	212	9000	139	15,4	19
35	220	8700	145	16,6	21
49	210	9200	142	15,4	17
62	199	9500	138	14,5	14
75	185	9200	141	15,3	21
85	180	8700	137	15,7	22
95	170	9300	143	15,3	19
99	172	9500	147	15,4	18
103	165	10000	149	14,9	16
106	160	10000	152	15,2	13
109	mort				

c) Discussion des résultats

1) Survie et poids :

Les variations de poids sont sans rapport avec la survie. Un animal (rat n° 3) a même augmenté mais il est à séparer des autres du fait de son poids initial. Les animaux d'environ 250 grammes et un autre de 120 grammes ont perdu en général moins de 30 %.

2) Nuération globulaire

La première chose qui frappe est l'inconstance du résultat. Nous voyons que trois animaux (groupés artificiellement à la fin pour mieux les séparer des autres) n'ont montré aucun signe d'anémie. Nous avons dit que les chiffres de globulie du rat sont dans l'ensemble assez variables et pour cette raison on peut considérer que les animaux 8 & 9 n'ont pas répondu. Quant au rat n° 10, il est incontestable que sa réponse est réellement paradoxale. Que faut-il incriminer ? Une résistance particulière, une réserve pantothénique anormalement élevée ? Mieux vaut ne pas faire des hypothèses qui ne sont basées sur rien de précis et classer cette réponse parmi les cas "anormaux" qui rendent les études physiologiques parfois délicates dans leurs déductions.....

Les sept autres animaux ont accusé des chutes globulaires variables. Celles qui ne sont pas très marquées ne peuvent cependant être mises en doute du fait de leur prolongation. En effet, on note assez souvent, en cours d'expérience, entre le 15^{ème} et le 30^{ème} jour, une remontée globulaire au sujet de laquelle on peut toujours invoquer un mécanisme de concentration sanguine, conséquence de la déshydratation (147), mais, rien n'est moins sûr car la chute de poids n'apparaît pas plus intense à cette période.

Quant à essayer d'entrevoir une systématisation de l'importance de l'anémie par rapport à des données diverses (poids initial, survie ou chiffre initial de numération globulaire), il n'y faut pas songer. Les réactions physiologiques sont bien trop complexes pour se hasarder à des conclusions générales sur 10 animaux.

3) Hémoglobine et valeur globulaire.

Les variations sont dans l'ensemble assez faibles. Un animal (n° 10) a vu son taux augmenter. Les autres montrent une chute moins accusée que celle des hématies : l'anémie est donc du type hyperchrome comme en témoignent les chiffres de valeur globulaire.

4) Réticulocytes

Les variations observées nous semblent sans intérêt en dehors de l'augmentation au moment des régénérations spontanées.

D) Examens cytologiques.

1) Sang au cours de la période terminale

Il est peu de faits notables en dehors de l'anisocytose et de la poikilocytose. La polychromatophilie est discrète. Enfin quelques hématies ont bien une taille un peu grande mais ce sont des macrocytes qui n'ont rien de commun avec des mégaloocytes.

2) Môlle osseuse

Les examens ont été faits sur 8 animaux, les rats 1 et 9 étant morts pendant la nuit. En effet, chacun sait que les étalements de môlle osseuse prélevée quelques heures après la mort montrent la plupart du temps des cellules lysées et de colorabilité fortement altérée. Il nous semble de la dernière imprudence de faire une observation dans ces conditions.

a) Rats non anémiés : l'aspect est normal et il n'y a pas à s'en étonner a priori.

b) Rats anémiés : la môlle osseuse est dans l'ensemble hyperplasique, témoignant d'un effort de régénération cellulaire. Dans la lignée rouge, on note un nombre accru de petits érythroblastes. Alors que chez les animaux normaux le taux des éléments nucléés oscille entre 15 et 35 % du nombre de leucocytes (30,8 % selon ENDICOTT & OTT) nous avons trouvé ici des valeurs comprises entre 50 et 80 %. La plupart de ces cellules montrent un noyau pyconotique où on peut guère distinguer de masses chromatiniennes, noyau qui serait intermédiaire entre celui de l'érythroblaste classique et celui du normoblaste. Le protoplasme, basophile, est peu abondant. A côté de ces cellules, mais en nombre beaucoup moins important, nous avons relevé la présence d'éléments dont le noyau était, cette fois, celui d'un érythroblaste normal mais la cellule elle-même atteignait des dimensions plus grandes (10 à 12 μ au lieu de 7). Le rapport nucléoplasmique était beaucoup plus faible que celui d'un érythroblaste normal, non par déficience de la taille du noyau mais du fait de l'importance du protoplasme, par ailleurs nettement basophile. Il semble bien qu'il y ait là une disparité dans la maturation des deux constituants cellulaires. Les figures peuvent être rattachées à un état intermédiaire entre le proérythroblaste classique et l'érythroblaste basophile, avec toutefois une certaine dysharmonie. La mise en évidence de proérythroblastes vrais ayant demandé une telle étude des lames, nous pensons que leur présence peut-être considérée comme physiologique.

L'examen de la lignée myéloïde montre qu'il n'existe pas dans l'ensemble d'hyperplasie mais un fait semble constant : au lieu de trouver comme chez le rat normal des cellules myéloïdes à protoplasme incolore ou beige, parfois très légèrement oxyphile, on relève un nombre

accru d'éléments à protoplasme basophile du type myéloblaste.

Paragraph 5 - CONCLUSIONS

De cette étude des rapports entre l'acide pantothénique et l'hématopoïèse il ressort quelques résultats intéressants.

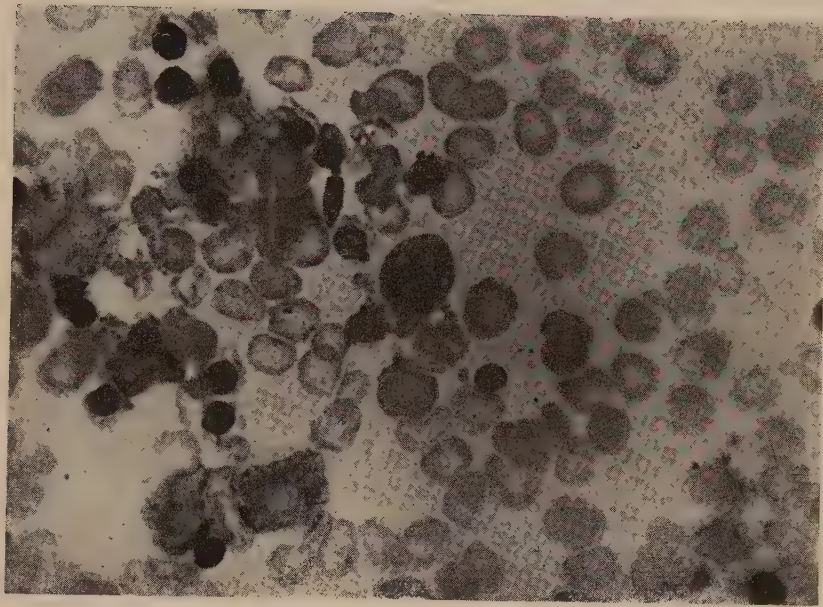
En premier lieu, cette vitamine exerce sur la lignée rouge des organes hématopoïétiques une stimulation même pour des concentrations minimales. Administrée à des rats, elle conduit à des crises réticulo-érythrocytaires d'une rare intensité.

L'étude de la carence pantothénique chez l'animal adulte montre une anémie hyperchrome chez 7 rats sur 10. Les examens de moëlle osseuse révèlent une immaturation nette dans la lignée myéloïde. Dans la lignée rouge, on relève des stigmates de plasticité : le nombre des érythroblastes est accru. A côté de ceux-ci apparaissent des éléments plus jeunes qui ne sont pas des proérythroblastes mais qui montrent une dysharmonie dans la maturation.

Ces conclusions doivent être limitées très exactement au cas correspondant au protocole expérimental. Nous ne signalerons, à l'appui de cette thèse, que les résultats récents de MAC CALL, WAISMAN, ELVEH-JEM & JONES (100) relatifs aux carences chez le macaque, carences accompagnées d'une anémie hypochrome et microcytaire.

Beaucoup de facteurs interviennent dans les différents types de réactions observées. Si l'acide pantothénique n'apparaît pas devoir être le principe extrinsèque lui-même, il reste cependant à préciser son mécanisme d'action dans l'hématopoïèse. Nous y reviendrons plus loin.

Le régime complexe que nous avons signalé plus haut comporte un protide, la lactalbumine, dont le lyse enzymatique libère des aminoacides qui peuvent exercer une certaine influence sur l'hématopoïèse. C'est pourquoi nous avons pensé qu'il serait intéressant d'étudier de plus près le rôle éventuel des protides. C'est ce que nous allons voir maintenant.



Carence pantothénique
Moelle osseuse [× 930]

CHAPITRE VII

INFLUENCE DES PROTIDES ALIMENTAIRES SUR L'HEMATOPOIESE

-:-:-:-:-

Paragraphe 1 - RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE

En abordant ce nouvel aspect de la question qui nous intéresse, notre but n'est pas de commencer par faire une mise au point; ceci nous entraînerait trop loin. Les protides sont formés d'acides aminés et ceux-ci, s'ils n'exercent pas une influence dans la maturation proprement dite des hématies, (fait qui n'est pas démontré car certains sont peut-être pourvus de véritable activité vitaminique) interviennent comme matériaux dans la synthèse de l'hémoglobine in vivo. Or, il est impossible de séparer l'hématopoïèse de l'hémoglobine.

Malgré l'importance et l'intérêt du travail, nous ne ferons que citer les recherches déjà anciennes de FONTES & THIVOLLE (54 bis) sur le tryptophane et l'histidine. Depuis 1940, relevons les études de WHIPPLE & ROBSCHT-ROBBINS (167) sur l'influence de divers acides aminés dans la formation de l'hémoglobine au cours des anémies, GLYNN, HIMS-WORTH & NEUBERGER (58) sur les déficiences en acides aminés sulfurés, GAJDOS ET ERKELETYAN (56 bis) sur la méthionine, MAUN, CAHILL et DAVIS (103-104) sur l'histidine et la leucine, ORTEN et ORTEN (112-113), ces derniers ayant insisté sur le besoin simultané de plusieurs acides aminés. Enfin, disons que chez l'homme, des anémies macrocytaires ont été signalées par TAYLOR & CHUTANI (158) par carence en protéines animales.

Nous avons pour notre part effectué dans les derniers mois de 1945 et le début de 1946 une étude sur l'hématologie du rat soumis à un régime complètement privé de protides. Nous ne le rapporterons pas ici, moins du fait du travail de KORNBERG, DAFT et SEBRELL (85) relatif à des diètes partielles en protides chez des animaux recevant en plus des dérivés bactériostatiques à polarité digestive en vue de créer des carences foliques que de la publication, au début de 1946, d'une excellente étude faite par ASCHKENAZY (7). Notre protocole opératoire était un peu différent de celui de cet auteur mais les conclusions pratiquement identiques. C'est donc à ASCHKENAZY que doivent être attribués les résultats suivants :

L'inanition protéique chez les rats se traduit par une anémie apparaissant vers le 50ème jour; celle-ci peut être régulièrement croissante ou subir des améliorations paradoxales, mais les chutes globulaires atteignent finalement des valeurs comprises entre 38 et 65 %. Cette anémie, accompagnée d'ailleurs de leucopénie, peut être hypochrome au

début mais elle évolue toujours vers l'hyperchromie. Le taux de réticulocytes diminue au début mais augmente en fin d'expérience. Comme autres caractères, nous notons la plasticité, et la tendance à la régénération comme en témoigne le taux élevé de normoblastes dans le sang circulant, même chez des animaux qui ne réagissent pas au point de vue hématologique. La moëlle osseuse traduit d'ailleurs une réaction érythroblastique intense mais il n'y a pas apparition de formes jeunes.

Paragraphe 2 - TRAVAIL PERSONNEL

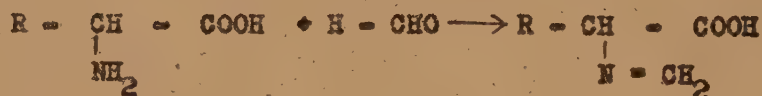
LES ANEMIES "AU TRIOXYMETHYLENE"

Parallèlement à nos inanitions protéiques, nous avons entrepris une étude un peu particulière des carences protidiques (ou supposées telles) par une voie détournée. Nous allons la relater, plus pour l'originalité de l'hypothèse que pour les résultats, étant donné ce qu'on sait maintenant.

A) HYPOTHESE DE TRAVAIL

Notre idée était de conserver les protides dans la ration alimentaire mais en les rendant inutilisables pour l'économie..... En fait, un travail du même type effectué en 1934 par HOGAN & RICHTIE (66), qui avaient administré à leurs animaux une caséine traitée au préalable par l'acide nitreux, avait permis la réalisation d'une anémie.

Au lieu de cette modification in vitro, nous avons voulu essayer l'inactivation in vivo et pensé utiliser pour cela la réaction classique de SØRENSEN entre le groupement NH_2 libre des aminoacides et l'aldéhyde formique, qu'on peut schématiser ainsi :



Faire absorber du formol à des animaux n'est évidemment pas chose facile et ceux-ci refusèrent de s'alimenter avec le mélange caséine-aldéhyde formique qui se trahissait trop par son odeur. Il ne pouvait être question non plus de l'introduction par sonde œsophagienne étant donné la causticité du formol et la nécessité de réaliser une imprégnation continue.

La difficulté pouvait cependant être facilement tournée par l'emploi du polymère de l'aldéhyde formique appelé trioxyméthylène; poudre blanche d'odeur déjà moins accusée. Nous avons donc commencé par mélanger ce composé avec la caséine et vérifié que les rats absorbaient ce produit.

Que pouvait-on espérer de ce procédé qui comportait beaucoup

d'inconnues ?

En premier lieu se posait une question de solubilisation ultérieure dans l'organisme. D'abord en milieu acide puis en milieu alcalin, on pouvait espérer que le trioxyméthylène ne traverserait pas l'appareil digestif sans libérer du formol. Mais ensuite ?

Trois actions pouvaient être envisagées. Tout d'abord, celle dont nous avons parlé, le blocage des groupements aminés libres des protides puis des aminoacides libérés par protéolyse. Mais il y avait des raisons de penser que ce phénomène diastasique devait être sérieusement touché. En effet, le blocage des NH_2 libres du protide non désintégré rendait théoriquement nulle l'activité de l'aminopolypeptidase. De plus, les enzymes digestifs (pepsine, carboxypolypeptidase, aminopolypeptidase, dipeptidase, etc...) n'agissent classiquement pas dans un milieu formolé qui joue le rôle d'inhibiteur. Enfin, il était peut-être permis d'espérer que la libération lente du formol créerait une sclérose des muqueuses digestives, ce corps coagulant les protides. (X)

Ces hypothèses étaient séduisantes. Voyons maintenant quels ont été les résultats :

B) PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Les essais ont porté sur des rats adultes; le trioxyméthylène a été donné mélangé à une alimentation normale homogénéisée. Après quelques tâtonnements relatifs à des questions de doses de toxique à administrer, nous avons adopté des quantités de l'ordre de 0,10 g. par jour pour 200 g. de poids corporel. Nous aurions désiré administrer plus, pour des raisons que nous donnerons plus loin, mais des quantités de l'ordre de 1 gramme ont entraîné des morts très rapides. D'ailleurs, nous verrons que les accidents n'ont pas manqué même avec 0,10 gramme.

C) RESULTATS

On remarquera dans les tableaux qui vont suivre un nombre important de dosage d'hémoglobine qui ne sont pas signalés. Nous avons eu, en effet, beaucoup de difficultés pour prélever à nos animaux (surtout ceux qui sont morts précocement) le sang qui était hypercoagulable pour des raisons que nous n'avons pu élucider.

(X) Ce troisième effet hypothétique, comme les deux autres d'ailleurs, permettrait de ranger ces essais parmi les anémies d'origine "toxique" mais nous avons placé ce chapitre ici pour des raisons de simplification d'exposition, qui apparaîtront clairement à la lecture des chapitres suivants.

1 - MORTS PRECOSES SANS ANEMIE

Tableau 25

RAT N° 1 -

Jour d'expérience	Poids	Numer. globul.	Hémoglobine	Valeur globulaire	Réticulo-cytes
1	231	8500	123	14.1	11
5	226	8500	x	x	13
14	213	9000	130	14.5	17
16		mort			

RAT N° 2 -

1	288	7500	117	15.6	8
7	263	7000	x	x	10
15	255	6500	x	x	9
16		mort			

RAT N° 3 -

1	220	9500	141	14.8	9
5	200	10000	143	14.3	x
14	177	9000	x	x	17
20		mort			

...../.....

2) MORTS DANS DES DELAIS PLUS PROLONGES MAIS SANS ANEMIE

Tableau 26

RAT N° 4 -

Jour d'expérience	Poids	Numer. globul.	Hémoglobine	Valeur globulaire	Réticulo-cytes
1	278	9500	129	13,5	14
5	275	9000	130	14,4	12
14	252	10500	x	x	19
23	220	8500	123	14,4	32
30	240	8000	127	15,8	12
37	228	7500	x	x	11
43	245	10000	135	13,5	17
50	240	9000	138	15,3	22
58	232	8500	131	15,4	14
65	196	9500	x	x	11
72	198	19900	137	13,7	9
75	mort				

Tableau 27

RAT N° 5 -

Jour d'expérience	Poids	Numer. globul.	Hémoglobine	Valeur globulaire	Réticulo-cytes
1	260	8000	126	15,7	14
10	263	x	x	x	17
20	233	9000	123	13,6	10
33	256	9500	120	12,7	25
38	261	9000	119	13,2	19
41	287	8700	x	x	16
53	295	8000	121	15,1	14
60	294	x	x	x	23
67	270	8000	120	15,0	17
70		mort			

Tableau 28

RAT N° 6 -

Jour d'expérience	Poids	Numer. globul.	Hémoglobine	Valeur globulaire	Réticulo-cytes
1	203	8500	135	15,8	16
10	216	8500	135	15,8	15
20	205	10000	140	14,0	22
33	215	9500	137	14,4	20
38	225	9000	126	14,0	16
41	236	8300	x	x	16
53	227	8000	117	14,6	18
62	215	8000	120	15,0	20
63	mort				

Tableau 29

RAT N° 7 -

1	176	9000	120	13,3	14
8	185	8000	126	15,7	12
16	173	10000	133	13,3	12
27	185	9000	130	14,4	12
34	186	10000	145	14,5	15
42	193	9500	137	14,4	9
51	199	9000	132	14,6	10
60	192	x	x	x	8
67	mort				

3) ANIMAUX MORTS OU SACRIFIES EN ETAT D'ANEMIE

Tableau 30

RAT N° 8

Jour d'expérience	Poids	Numer. globul.	Hémoglobine	Valeur globulaire	Réticulocytes
1	203	8500	122	14,3	11
7	193	9000	x	x	15
15	168	9500	128	13,4	19
23	186	7500	115	15,3	35
31	199	7500	112	14,9	30
39	202	7000	x	x	22
44	197	6000	104	17,3	27
50	181	6000	x	x	29
57	173	7000	110	15,7	17
61	163	6000	103	17,3	15
67		mort			

Tableau 31

RAT N° 9

1	230	8500	132	15,5	20
9	214	9500	137	14,4	22
13	207	8000	x	x	18
18	200	7300	129	17,6	20
22	198	6500	119	18,3	16
25	182	6000	x	x	14
29	175	5200	106	20,4	9
30		sacrifié			

Tableau 32

RAT N° 10

1	205	9500	140	14,7	16
9	190	7500	137	18,2	18
16	178	6500	130	20,0	15
25	168	5000	x	x	13
31	160	4200	99	23,5	14
39	151	3500	92	26,8	9
45	147	3000	81	27,0	9
47	140	3000	80	26,6	7
48		mort			

Tableau 33

RAT N° 11 -

Jour d'expérience	Poids	Numer. globul.	Hémoglobine	Valeur globulaire	Réticulocytes
1	203	8500	127	14,9	11
8	193	9000	137	15,2	17
16	180	x	x	x	37
24	186	8000	131	16,3	18
32	199	7500	x	x	22
40	202	8000	127	15,8	27
45	197	6500	125	19,2	18
54	173	6500	122	18,7	14
61	173	6200	x	x	12
69	160	6000	119	19,8	10
78	152	5800	107	18,4	7
88	158	x	x	x	x
93	150	5000	105	21,0	10
99		sacrifié			

Tableau 34

RAT N° 12 -

1	304	11000	155	14,1	27
11	282	11000	150	13,6	25
18	262	10000	x	x	32
26	238	9500	140	14,7	29
34	265	9000	147	16,3	17
40	275	8000	139	17,3	26
43	281	7500	x	x	23
47	284	7000	129	18,4	21
48	282	6500	122	18,7	20
49		sacrifié			

Tableau 35

RAT N° 13

1	317	9000	126	14,0	24
12	278	8500	122	14,3	25
20	283	7500	x	x	21
27	298	7500	117	15,6	x
35	275	7000	110	15,7	19
41	232	6000	111	18,5	27
48	287	5500	x	x	18
60	302	6000	106	17,6	19
61		sacrifié			

Tableau 36

RAT N° 14

Jour d'expérience	Poids	Numer. globul.	Hémoglobine	Valeur globulaire	Réticulocytes
1	201	11500	129	11,2	12
11	212	11000	x	x	20
21	208	x	x	x	x
34	226	10000	127	12,7	18
39	248	8500	120	11,1	21
47	237	8000	115	11,3	22
54	230	7500	x	x	23
59	210	7000	116	16,5	29
62		mort			

D) INTERPRETATION DES RESULTATS

Avant d'examiner les réponses, nous devons tenir compte d'une critique. En effet, il apparaît que les quantités de trioxyméthylène administrées ne peuvent certainement pas arriver à "bloquer" la totalité des groupements NH_2 des protides ingérés. Ceci est certainement vrai si on tient compte de l'ensemble des aminoacides libérables mais il ne faut pas oublier que l'immense majorité de ces NH_2 est combinée sous forme de liaisons peptidiques. Le nombre des NH_2 libres de la molécule protéique non attaquée et susceptibles d'être bloquée par l'aldéhyde est beaucoup plus réduit, mais, évidemment, ce qui se passe in vivo au cours de cette expérience est difficile à saisir, donc à discuter. Bornons-nous en aux constatations.

Sur 14 animaux en expérience, 3 sont morts avant le vingtième jour sans avoir accusé une chute globulaire. A l'autopsie, on note une congestion de l'arbre digestif et l'examen de la moëlle osseuse ne révèle rien de bien caractéristique.

Quatre autres animaux sont morts non anémiés mais beaucoup plus tard. Le poids a paradoxalement augmenté chez trois d'entre eux. Les examens hématologiques n'apportent rien, comme on peut s'en rendre compte. A l'autopsie, le tube digestif montre des zones congestives à côté d'autres blanchâtres mais la sclérose est minime. Dans la moëlle, on note dans les quatre cas une réaction érythroblastique discrète,

A côté de ces sept animaux qui ont résisté, sept autres ont accusé des anémies plus ou moins intenses, sévères chez certains. Au point de vue pondéral, chute sauf dans un seul cas. L'anémie, à sa

phase ultime (ou tout au moins avancée, pour les animaux sacrifiés) est hyperchrome car l'hémoglobine varie peu. Cette anémie subit dans l'ensemble une évolution continue sans phase de régénération nette quand elle s'est amorcée. Les réticulocytes chutent en général en fin d'expérience mais il y a des exceptions (+). Des examens de sang effectués en cours d'expérience quand l'anémie est avancée montrent, outre l'anisocytose, poikilocytose et polychromatophilie, des normoblastes mais à un taux inférieur à ceux constatés par ASCHKENAZY (7) au cours des carences protéiques.

A l'autopsie, le tube digestif paraît induré mais il faut être très prudent dans ce genre d'affirmation....Les moëlles osseuses mettent en évidence une réaction érythroblastique très accusée du type de celle des inanitions protéiques mais aucune régression de maturation dans la lignée rouge. L'anémie est donc plastique et, dans le cadre de notre travail, d'un intérêt restreint. Son déterminisme restant, malgré nos hypothèses, assez obscur, nous ne l'avons pas utilisée au cours du travail à venir mais nous allons voir maintenant que l'inanition protéique, jointe à d'autres carences, donne des résultats finaux différents de ceux enregistrés au cours des essais séparés.

.-1-1-1-1-1-1-

(+) Remarquons maintenant que leur intérêt ne s'est pas encore montré bien évident au cours des recherches décrites.

CHAPITRE VIII

L'HEMATOPOIESE AU COURS DE CARENCES MIXTES PROTIDES -

ACIDE PANTOTHENIQUE ET DE CARENCES PLUS COMPLEXES

-:-:-:-:-

Paragraphe 1 - CARENCES MIXTES PROTIDES -

ACIDE PANTOTHENIQUE

A) Protocole expérimental

Nous avons vu au cours des chapitres précédents les résultats obtenus en supprimant de la ration l'acide pantothénique ou les protides. Dans aucun cas, nous n'avions pu obtenir une régression caractéristique de la maturation des éléments de la lignée rouge dans la moëlle osseuse; cependant, nous avons noté dans les carences pantothéniques seules un premier indice : la dysharmonie dans la maturation du noyau et du protoplasme.

Si les réactions physiologiques s'additionnaient avec une rigueur mathématique, nous n'aurions jamais eu l'idée de réaliser cette expérimentation car le résultat eût pu paraître acquis par avance. Heureusement (ou malheureusement, suivant les circonstances), les réponses physiologiques sont souvent imprévisibles. Dans ce domaine, rien ne peut-être laissé au hasard et le biologiste, en cultivant également scepticisme et confiance doit se résoudre à faire avec minutie des expériences qui ne lui laissent aucun espoir a priori. Il faut essayer pour "voir ce qui se passe".

C'est donc sans idée préconçue que nous avons commencé les essais que nous relatons plus bas. Les hypothèses de travail qui commentaient les chapitres précédents ont été, dans leur majeure partie, infirmées. Ici, nous n'en avons aucune. Les faits nous ont ouvert les yeux sur une voie, qui, bien que réservée dans ses promesses, nous a donné tout de même quelques résultats appréciables.

Nous avons donc soumis nos animaux habituels au régime suivant :

- 1) Mélange de base : Saccharose..... 50 g.
Acide oléique... 2 g.
Mélange salin .. 2 g.
(cf. chap. VI)
papier filtre.

- 2) Vitamines : voir chapitre VI.

W) Résultats (127)

Nous avons conservé pour leur expression les tableaux habituels

Tableau 37

RAT N° 1

Jour d'expérience	Poids	Numér. globul.	Hémoglobine	Valeur globulaire	Réticulocytes
1	225	8500	134	15,8	17
9	210	8500	131	15,4	12
15	197	8000	130	16,2	11
21	176	7500	129	17,2	18
29	171	7000	127	18,1	16
42	132	6000	117	19,3	27
49	121	5000	119	23,8	24
53	112	3500	119	34,0	24
58		mort			

Tableau 38

RAT N° 2

1	262	10500	152	14,4	14
9	242	11000	150	13,6	29
15	228	8000	137	17,1	29
21	220	7500	130	17,3	28
29	197	6000	125	20,8	20
42	180	7000	120	17,1	17
49	162	5000	107	21,4	15
53	137	3500	104	29,7	18
55		mort			

Tableau 39

RAT N° 3

1	177	11000	144	13,0	18
8	183	9500	135	14,2	15
17	168	10000	137	13,7	13
25	161	8500	140	16,4	16
33	142	8500	137	16,1	14
40	129	8000	142	17,7	12
51	117	7000	137	19,5	18
57	120	7200	141	19,5	15
60	115	7000	132	18,8	13
63	112	6500	135	20,7	18
65		mort			

Tableau 40

RAT N° 4

Jour d'expérience	Poids	Numer. globul.	Hémoglobine	Valeur globulaire	Réticulocytes
1	250	9500	113	15.0	21
9	235	9000	110	15.5	21
17	220	10000	117	11.7	20
26	202	9000	137	15.2	17
34	190	8500	135	15.8	15
41	167	8000	139	17.3	19
51	151	7000	x	x	13
57	140	7000	130	18.5	18
60	145	7000	134	19.1	21
63		mort			

Tableau 41

RAT N° 5

1	253	10500	125	11.9	30
8	255	9500	120	12.7	27
15	222	12000	131	10.9	x
23	206	10000	129	12.9	x
30	197	9100	x	x	14
38	169	7500	127	16.9	19
46	159	7000	121	17.3	22
51	156	6500	125	19.2	19
58	148	6000	122	20.3	23
59		mort			

Tableau 42

RAT N° 6

1	253	10500	134	12.7	30
9	247	10000	133	13.3	21
18	239	9000	125	13.8	20
25	202	7500	128	15.7	18
32	187	8000	121	15.1	19
39	163	6200	120	19.3	16
46	149	5500	120	21.8	16
54	152	5000	115	23.0	13
61	137	5000	118	23.6	12
68	122	4000	113	28.2	11
74		mort			

Tableau 43

RAT N° 7

Jour d'expérience	Poids	Numer. globul.	Hémoglobine	Valeur globulaire	Réticulocytes
1	291	9000	134	14,9	19
9	280	8500	121	14,2	x
15	275	8500	116	17,8	16
22	245	6000	101	20,2	x
29	213	5000	99	19,8	14
37	190	4500	95	21,1	19
45	187	3000	90	30,0	16
52	185	2500	89	35,6	20
55	mort				

Tableau 44

RAT N° 8.

1	280	8500	152	17,8	16
9	264	9000	150	16,6	x
17	255	7500	x	x	14
27	239	8500	149	17,5	13
37	220	7500	140	18,6	19
45	202	8000	x	x	16
49	191	8500	147	17,3	15
53	187	7500	141	18,8	16
56	179	8000	145	18,1	20
59	mort				

Tableau 45

RAT N° 9

1	282	8500	152	18,8	16
10	261	8500	149	17,5	19
19	247	8000	141	17,6	x
29	231	7000	136	19,4	14
38	221	7700	141	18,3	18
45	207	8000	145	18,1	13
52	190	8000	x	x	16
58	181	7500	x	x	15
64	178	7000	137	19,5	21
65	mort				

Tableau 46

RAT N° 10

Jour d'expérience	Poids	Numer. globul.	Hémoglobine	Valeur globul.	Réticulocytes
1	258	7500	143	19,0	12
10	232	7500	140	18,8	13
19	213	x	x	x	11
29	190	8000	145	18,1	15
39	176	8500	139	16,3	16
48	150	9000	149	16,5	22
57	135	7500	x	x	11
62	122	8000	141	17,6	16
67	113	7500	137	18,2	17
71 mort	114	8000	140	17,5	15

C) Discussion des Résultats -

- 1) Survie : Elle est assez peu variable et oscille entre 8 et 10,5 semaines.
- 2) Poids : les chutes de poids ont été observées chez tous les animaux. Elles sont en général importantes, certaines dépassant 50 %.
- 3) Numération globulaire : Trois animaux ont pratiquement conservé intact leur chiffre de globulie. Les sept autres ont accusé des anémies parfois extrêmement sérieuses.
- 4) Hémoglobine et valeur globulaire : Les animaux ayant résisté ont gardé un taux d'hémoglobine relativement plus stable que les autres. Cependant, tous ont vu leur chiffre baisser. La chute est d'ailleurs considérablement moins forte que celle de la globulie : les anémies, quand elles existent, sont hyperchromes.
- 5) Sang périphérique : réticulocytes et normoblastes

La numération des réticulocytes n'apporte que peu d'éléments intéressants. Si en moyenne leur taux baisse au début d'expérience (1ère et 2ème semaines), comme cela a déjà été signalé au cours des carences protidiques (7), il ne remonte pas par contre à des taux dépassant ceux du départ. Ceci n'est d'ailleurs pas une preuve très sûre de l'absence de tendance à la régénération. Nous croyons peut-être plus intéressant de signaler que le sang prélevé en fin d'expérience ne montre

pas un taux de normoblastes très élevé, même chez les animaux très anémiés (3 à 12 % du chiffre des leucocytes alors qu'on trouve 1 à 7 % chez des témoins). Enfin, il n'est pas rare de trouver des globules rouges de taille anormale: peu de microcytes mais des hématies de 9 à 10 μ qui n'ont cependant rien des mégaloctes de l'anémie pernicieuse.

6) Moëlle osseuse :

a) animaux non anémiés :

1) lignée blanche : tendance peu accusée vers la basophilie.

2) lignée rouge : réaction érythroblastique discrète demandant assez de prudence dans l'interprétation étant donné les variations physiologiques.

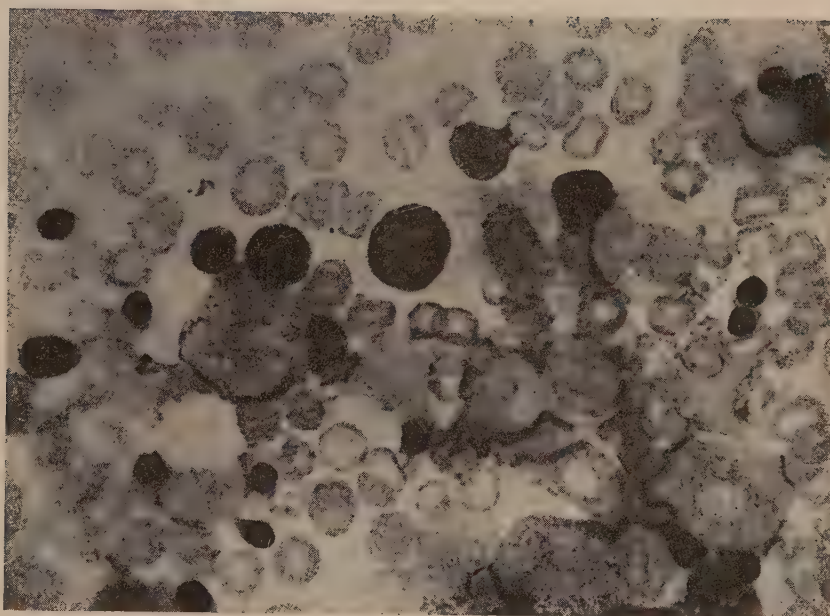
b) animaux anémiés :

1) lignée blanche : basophilie et immaturation déjà signalées dans les carences pantothéniques.

2) lignée rouge : Nous avons retrouvé la réaction normoérythroblastique signalée au cours des carences pantothéniques, mais, c'est plutôt au point de vue qualitatif que nous avons noté des faits intéressants. A côté des érythroblastes à rapport nucléoplasmique faible, nous avons trouvé des éléments d'aspect beaucoup plus jeune. Ce sont des cellules de grande taille (15 à 18 μ), à noyau rond ou ovalaire dont les nucléoles, quand ils existent, sont peu nets. Le réseau chromatinien est assez fin, à l'aspect craquelé ou à mailles grossières. Le fond du noyau est incolore ou légèrement oxyphile. Le protoplasma, assez réduit, est bleu franc, parfois bleu de Prusse.

S'il est possible d'établir une correspondance avec les éléments sanguins humains, il s'agit de proérythroblastes. Les intermédiaires entre ces cellules et le grand érythroblaste à rapport nucléoplasmique faible rattachent bien cet élément à la lignée rouge, mais rendent le calcul du pourcentage délicat. La répartition est d'ailleurs très inégale (1 à 5 % des leucocytes suivant les endroits). Il est évident que ces cellules ne sont pas des mégaloctes mais les examens répétés de moëlle osseuse de rat normal ne permettent pas d'en découvrir d'identiques. Il s'agit là d'une régression incontestable dans la maturation, assez comparable à celle observée dans les intoxications aiguës par le plomb. Mais, elle affecte à notre avis une autre signification. Ici, le résultat n'est pas obtenu par addition d'un toxique au régime, mais, par une carence. L'essai est beaucoup plus physiologique et tient beaucoup plus compte des données biochimiques relatives à la maturation des hématies.

Nous avons dit au cours des chapitres précédents qu'il n'y



Carence mixte Protides — Acide pantothénique
Moelle osseuse [×930]

avait certainement pas de séparation absolue entre les lignées rouges embryonnaire et définitive. Si le résultat obtenu ici n'est que partiel (et ne l'oublions pas) il indique cependant la voie à suivre et incite à de nouvelles expérimentations.

Paragraphe 2 - CARENCE COMPLEXES

En examinant la liste des vitamines administrées aux animaux au cours des carences que nous venons de voir, nous pouvons remarquer que la majorité d'entre elles ont été utilisées avec plus ou moins de succès au cours d'anémies pernicieuses, en particulier les facteurs A, B₁, B₂, B₆, et PP.

A titre d'essai, nous les avons supprimées du régime déjà exempt de protides et d'acide pantothénique et suivi un groupe d'animaux ainsi traités. Les résultats ont été franchement mauvais et si nous en faisons état, c'est uniquement pour un enseignement qu'ils semblent comporter.

Résultats

Les sept animaux mis en expérience sont morts très rapidement, entre le 15 et le 23^{ème} jour, dans un état physiologique assez pitoyable, accompagné d'une perte de poids de l'ordre de 40 % environ. Cette inanition particulière était accompagnée chez 6 animaux sur 7 d'une anémie intense (2.500.000 à 3.000.000 d'hématies par mm³) mais les examens de moëlle osseuse n'ont montré qu'une réaction érythroblastique accusée sans trace d'immaturation dans la lignée rouge.

Il ne semble pas qu'on puisse incriminer, à la lumière des expériences de ce chapitre, un antagonisme entre certaines vitamines, les unes favorisant la maturation et les autres agissant en sens inverse. L'hypothèse la plus vraisemblable est que le facteur temps intervient dans la modalité de la réaction médullaire. Il faut laisser à la moëlle osseuse le recul nécessaire pour son adaptation à de nouvelles conditions de vie : une privation brutale de principes essentiels n'aboutit qu'à l'utilisation de moyen de fortune à effets rapides.

Cependant, si les nouvelles vitamines supprimées avaient eu une action sur l'hématopoïèse, il semble que nous eussions pu tout de même assister à une ébauche de réaction dans le sens qui nous intéresse.

Si ce groupe de vitamines doit être certainement mis hors de cause, le problème de la maturation des hématies n'aboutit cependant pas dans une impasse grâce à la découverte par l'école américaine du "Lactobacillus casei factor", appelé encore "acide folique".

— — — — —

CHAPITRE IX

L'ACIDE FOLIQUE ET L'HEMATOPOIESE

-:-:-:-:-

Paragraphe 1 - RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE

Nous avons jusqu'ici, à chaque chapitre orienté sur des données nouvelles, regretté de nous voir obligé de résumer d'importants travaux trop rapidement. Cette constatation prend, à propos de l'acide folique, une signification encore plus grande car nous n'allons pouvoir consacrer que peu de temps à cette importante découverte spécifiquement américaine, fruit de cinq années de travaux ayant nécessité l'appoint de chercheurs réputés et de moyens matériels auxquels nous ne sommes pas habitués.

La liste des publications originales relatives à ce nouveau principe vitaminique dépassant de loin la centaine, d'importantes monographies et mises au point ont été consacrées à ce sujet, soit au cours des recherches (39-46), soit dans des revues sur les anémies expérimentales (16) ou dans des traités relatifs aux vitamines (36-157). Quelques articles ont, en outre, paru en France (53-10-119). Les domaines d'expérimentation ont été tellement variés qu'il nous sera peut-être difficile de dire l'essentiel sous un jour simple et précis. Enfin, nous essaierons d'être sobre de noms propres d'auteurs, étant donné leur nombre.

L'acide folique est une vitamine du groupe B très largement répandue dans la nature. Cinq désignations lui ont été appliquées suivant le cadre des recherches. Ce sont : vitamine M, vitamine B₉, "Eluate factor", facteur *Lactobacillus casei*, et acide folique.

1). Recherche sur le singe :

Les premières recherches d'ordre physiologique et biochimique s'étagent entre 1935 et 1938 avec DAY, LANGSTON et leurs collaborateurs (42-41-39-88-40), par l'étude chez le singe d'une carence particulière en un facteur du groupe B, accompagnée d'anémie et de leucopénie. En 1938, le terme de vitamine M (du nom du singe : *Macacus mulatta*) était employé pour désigner ce facteur inconnu. La levure de bière et les extraits de foie jouissaient vis-à-vis de cette carence d'un effet préventif et curatif, à l'encontre de nombreux autres facteurs connus (vitamines PP, B₁, B₂, B₆, acide pantothénique, inositol, acide paraminobenzoïque, choline, acide pimélique, glutamine).

Les essais de purification des extraits hépatiques (155) ou de levure (69) effectués pour d'autres buts (carences chez le poulet et étude d'un facteur nécessaire à la croissance de certaines bactéries) se poursuivaient parallèlement et, en 1943 apparaissait une certaine identité des produits obtenus: "acide folique", (sans préjuger d'une constitution chimique), et vitamine M (136-163-144).

2) Etudes chez le poulet

En 1939 et 1940, HOGAN & PARROT (64-65) découvraient chez le poulet soumis à un régime particulier une carence se traduisant par une anémie et donnaient le nom de vitamine B₁₀ (de "chick", qui veut dire poulet) à ce principe qui devait être isolé du foie sous forme cristallisée par PFFIFNER et ses collaborateurs en 1942 (120). Mais, la même année, les études continuées sur le poulet (21) permettaient d'individualiser un facteur spécifique du développement du plumage (vitamine B₁₀) et un autre responsable seulement de la croissance (vitamine B₁₁), tous deux présents dans le foie.

La question, qui était déjà complexe, réservait cependant encore des surprises car, en 1945, PFFIFNER et ses élèves (121) isolaient, de la levure cette fois, un composé cristallisé à propriété antianémique sur le poulet (donc du type B₁₀), mais le poids moléculaire était 2,8 fois plus important que celui du principe hépatique. Ils lui donnèrent le nom de "vitamine B₁₀ conjuguée" car un processus enzymatique permettait de séparer le principe B₁₀ lui-même du conjugué. L'étude des réactions diastasiques devaient retenir l'action des chercheurs (178-22-23-175-38), mais nous ne pouvons nous y arrêter.

3) Etudes microbiologiques.

Les purifications de tous ces principes pouvaient heureusement être poursuivies grâce à un test bactériologique.

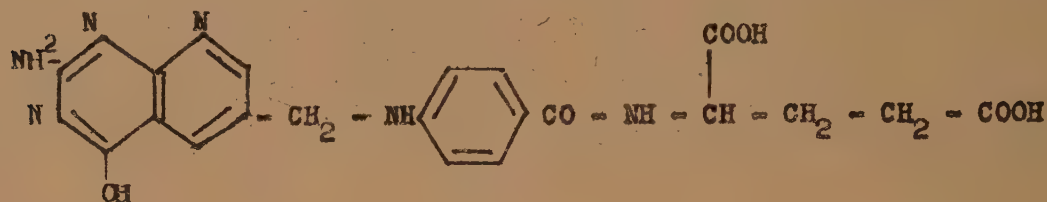
En effet, en 1940, SNELL & PETERSON (148) avaient mis en évidence la nécessité de certains facteurs encore inconnus pour la croissance de diverses bactéries lactiques, facteurs retrouvés dans le foie, la levure et d'autres produits naturels. Parmi les nombreux microorganismes essayés, le *Lactobacillus casei* avait été retenu comme test et STOKSTAD (153), en 1941, avait isolé un nucléotide nécessaire à sa croissance.

Une synthèse partielle de toutes ces activités disparates devait être faite en même temps que les travaux continuaient : les produits purifiés (69) montraient une activité sur la croissance du poulet (68) et combattaient également de façon efficace l'anémie chez le même animal (106). Les ressemblances devaient être confirmées par des études chimiques et physiologiques. De même les relations entre la vitamine M et l'"acide folique" devaient être mises en valeur (160-159-43) et DAFT & SEBELL (122) pouvaient définir en 1945 le "facteur

Lactobacillus casei".

Les études de chimie analytique sur les principes isolés commençaient à en faire entrevoir la composition chimique quand seize chercheurs associés publièrent en 1945 la synthèse d'un composé identique au facteur *Lactobacillus casei* isolé du foie (3).

La formule actuellement admise pour l'acide folique est la suivante :



Dans le domaine qui nous intéresse et que nous avons séparé à cet effet, les travaux ne manquent pas. En dehors des études relatives à l'action de l'acide folique sur la régénération sanguine consécutive à des hémorragies provoquées (86-140), la plupart des recherches sont relatives aux carences foliques provoquées. Elles ont occasionné quelques difficultés étant donné la possibilité de synthèse de ce principe par les bactéries intestinales. La difficulté devait être tournée dès 1941 par l'emploi à hautes doses de dérivés bactériostatiques à résorption lente qui, administrés "per os" effectuent une véritable stérilisation du tractus digestif (18). Les dérivés utilisés sont la sulfamidoguanidine et le succinylsulfathiazole, au sujet desquels de nombreuses études ont été faites (166-59) (avec bibliographie sur la question).

Le phénomène est certainement assez complexe car les symptômes de carence n'apparaissent pas si le dérivé bactériostatique est donné avec une ration ordinaire. De plus, un taux élevé de protéides a une influence protectrice (174).

Les études faites portent sur de nombreux points : croissance (109-133-101), survie (59), stockage hépatique et élimination de l'acide folique et de l'acide pantothenique (177-176-174-173), stigmates hématologiques (151-37-133-101-51) des rats soumis à ce régime et traités par l'acide folique. Signalons enfin les études sur le cobaye (25).

De ces expérimentations ressortent au point de vue sanguin la leucopénie et l'anémie au cours des carences foliques. La moëlle osseuse voit ses éléments se raréfier, plus nettement, semble-t-il, dans la lignée blanche. L'anémie peut parfois manquer mais, même dans ce cas, on constate une hypoplasie médullaire dans la lignée rouge avec régression de la maturation, mais sans atteindre des formes d'un

intérêt particulier. L'administration d'acide folique conduit à des régénérations spectaculaires qui portent d'abord sur la lignée myéloïde puis sur les hématies. Celles-ci sont même débordées au début par l'intensité de la réaction blanche, puis tout rentre dans l'ordre.

Des travaux venus à notre connaissance au cours de l'année 1946 et au début de 1947, nous ne relèverons dans le cadre expérimental qu'une étude de la répartition de l'acide folique dans les aliments (71), une étude sur le poulet montrant l'importance de la composition du régime sur les réponses à l'acide folique (99) et de nouveaux travaux sur le macaque (29) montrant l'inactivité des vitamines B₁₀ et B₁₁ dans les carences foliques.

Durant ces dix-huit derniers mois, l'attention s'est également portée sur l'homme. L'essai d'administration d'acide folique dans les anémies de Biermer ou du même type a été faite pour la première fois par SPIES (152) qui a pu constater de très sensibles améliorations, mais les remontées globulaires n'ont pas été aussi spectaculaires qu'avec les extraits hépatiques. De plus, les doses nécessaires sont excessivement variables (5 à 400 milligrammes par jour). L'auteur conclut que la levure de bière ou le foie donnent des réponses qui sont hors de proportion avec leur teneur en acide folique, qui est faible, du moins avec les tests utilisés. Nous aurons d'ailleurs l'occasion de revenir sur ce point. Parmi d'autres essais, citons ceux de BENARD, RAMBERT, et GAJDOS (10) en France.

Telles étaient les données dont nous disposions quand nous avons pu nous procurer les petites quantités d'acide folique que nous désirions, vers le milieu de l'année 1946.

Paragraphe 2 - TRAVAIL PERSONNEL

La contribution que nous avons apportée dans les études sur l'acide folique est, comme on va le voir, quantitativement minime par rapport à l'ensemble des travaux réalisés avant nous, mais elle nous a tout de même conduit à des résultats.

Quand nous avons commencé cette expérimentation, notre travail sur les crises réticuloocytaires chez le rat normal (voir chapitre X) était déjà pratiquement terminé. Les essais de traitement de l'anémie pernicieuse par l'acide folique ayant montré que le biernerien réagissait par une crise réticuloocytaire, il était évident que nous nous devions de faire le test sur le rat normal.

A) Les crises réticuloocytaires chez le rat normal au moyen de l'acide folique.

Cette expérimentation était à nos yeux assez grosse conséquence car elle mettait en jeu toute la question de la spécificité

de la réaction du rat normal. Néanmoins, il va sans dire que nous nous attendions à un résultat positif.

Instruit par notre étude quantitative et par les résultats obtenus chez l'homme, nous avons effectué cet essai en essayant de rester dans les limites de réponse homogène; nous avons donc administré à nos animaux 2 milligrammes d'acide folique pour 200 grammes de poids corporel, les premières réponses étant enregistrées chez l'homme avec 5 milligrammes par jour. L'essai a porté sur 6 animaux, notre méthode quantitative utilisant habituellement 5 rats. Les résultats sont consignés dans le tableau suivant :

Tableau 47

RATS	Taux de réticulocytes pour 1000 hématies les jours :													
	1	3	4	7	9	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	12	13	jour	18	21	x	20	21	29	36	26	20	16	10
2	10	12	de	15	13	16	15	19	28	34	23	x	15	13
3	16	19	1 ^e	16	19	21	25	22	38	24	24	40	26	14
4	19	19	in-	17	11	14	18	19	19	21	33	31	19	18
5	13	15	ges-	17	23	23	22	34	39	36	39	46	37	18
6	17	15	tion	16	x	17	22	21	37	21	18	15	13	x

INTERPRETATION DES RESULTATS

Nous constatons que tous les animaux ont répondu par une crise réticulocytaire, en général vers le 10ème jour. En empiétant un peu sur ce que nous dirons au cours de notre travail sur l'appréciation quantitative (cf. chapitre X), on peut chiffrer la réponse par un index réticulocytaire absolu de 18,6, qui correspond à la moitié de la dose humaine d'extrait hépatique actif.

Cette réponse, envisagée même au point de vue qualitatif, n'est pas sans intérêt. Elle est un argument de plus en faveur du test dont nous développerons les modalités plus tard.

B) Les carences foliques complexes.

1) Protocole expérimental

Ce point étant fixé, il restait à étudier les effets des carences foliques sur l'hématopoïèse. Or, nous avons vu que de nombreuses recherches avaient été consacrées à cette question. Il était inutile de les reprendre. Mais tout notre travail antérieur nous incitait à essayer des carences plus complexes. La nécessité de l'acide folique dans l'utilisation de l'acide pantothénique et ce que nous avons vu à propos des carences mixtes protides-acide pantothénique nous fit espérer des résultats prometteurs d'une carence complexe protides-acide pantothénique-acide folique.

Pour réaliser l'avitaminose folique, nous avons utilisé l'action des dérivés bactériostatiques à orientation intestinale, avec faible résorption. Nous nous sommes adressé au paraaminobenzènesulfonyleguanidine. Les quantités minimales de succinamidophénylsulfamidothiazole que nous avons pu nous procurer n'ont pas été suffisantes pour une expérimentation décisive.

Le régime de base de nos animaux est celui déjà signalé à propos des carences protides-acide pantothénique. Quant au taux de dérivé bactériostatique à introduire dans l'alimentation, il varie suivant le produit utilisé et les auteurs : GROSS, AXELROD & BOSSE (59) préconisent 0,5 à 1 % de sulfaguanidine dans la ration purifiée et obtiennent ainsi 90 % de mortalité en 2 mois. WRIGHT et SKEGGS (173) mélangent 10 % de succinylsulfathiazole au régime purifié, ce qui correspond proportionnellement à 20 ou 40 fois la dose humaine, et obtiennent des survies du même ordre.

Nous avons pris de notre côté des animaux adultes. Le taux de paraaminobenzènesulfonyleguanidine dans l'alimentation a été fixé à 0,5 %. (X). Supposant au départ une survie de 6-8 semaines, nous n'avons pas multiplié les examens hématologiques, surtout au début. Nous nous sommes fié pour juger de la date présumée de la mort de l'animal (donc des dernières numérations globulaires à pratiquer) sur le poids, l'aspect et le comportement.

2) Résultats

Les résultats sont indiqués dans les tableaux suivants présentés suivant la forme habituelle.

(X) Des expériences postérieures nous ont montré que des taux de 1,5 à 3 % donnaient des résultats dans l'ensemble plus réguliers.

Tableau 48

RAT N° 1

Jour d'expérience	Poids	Numer. globul.	Hémoglobine	Valeur globulaire	Réticulocytes
1	197	9200	129	14,1	13
25	183	9000	x	x	x
38	175	8500	127	14,9	15
45	166	8700	120	13,9	17
52	150	8000	118	14,7	15
58	140	8000	120	15,0	16
61		mort			

Tableau 49

RAT N° 2

1	260	11500	130	11,3	23
25	250	11000	135	12,3	25
38	220	10500	129	12,3	20
45	210	9700	x	x	18
52	201	9500	125	13,1	15
58	193	9300	128	13,7	16
60	181	9000	127	14,1	18
62		mort			

Tableau 50

RAT N° 3

1	179	9000	124	13,7	15
25	164	8000	120	15,0	13
35	153	7600	111	14,6	12
45	134	5500	x	x	11
55	120	4600	108	23,4	65
63	110	4300	105	24,4	11
68	99	4000	105	26,2	32
71	92	4000	102	25,5	10
74		mort			

- 92 -
Tableau 51

RAT N° 4

Jour d'expérience	Poids	Numer. globul.	Hémoglobine	Valeur globul.	Réticulocytes
1	198	9200	122	13,2	20
25	1778	9000	120	13,3	15
35	151	8500	107	12,6	13
45	121	4500	97	21,5	67
48	109	3500	93	26,6	39
51	105	2800	96	34,3	15
53 mort	103	2500	95	38,0	12

Tableau 52

RAT N° 5

1	213	9200	135	14,6	15
22	190	8300	x	x	12
39	170	8500	112	13,2	13
48	151	5000	102	20,4	34
53	140	4700	99	21,0	26
56	133	3800	100	26,3	17
59	131	3500	98	28,0	8
60		mort			

Tableau 53

RAT N° 6

1	193	10500	141	13,4	16
22	170	x	x	x	15
40	134	8500	130	15,3	18
48	127	5100	122	24,0	40
55	116	5000	x	x	32
59	110	4200	116	27,6	21
65	108	4500	120	26,6	17
69 mort	106	4000	121	30,2	12

Tableau 54

RAT N° 7

Jour d'expérience	Poids	Nmer. globul.	Hémoglobine	Valeur globulaire	Réticulo-cytes
1	213	9500	132	13,8	17
21	201	9000	127	14,1	14
36	186	8000	126	15,7	19
45	157	4600	110	24,0	35
48	147	4000	x	x	30
51	136	3700	101	27,3	11
54	131	3600	97	26,9	13
55	mort				

Tableau 55

RAT N° 8

1	260	10500	145	13,8	22
21	231	9500	133	14,0	17
36	206	9000	135	15,0	19
45	187	5300	112	21,1	43
54	169	5000	108	21,6	32
60	158	4500	108	24,0	17
65	152	4500	105	23,3	14
68	151	4000	103	25,7	12
70	mort				

3) Discussion des Résultats :

Les animaux mis en expérience ont réagi dans l'ensemble de façon homogène :

- 1) Survie : Elle varie de 53 à 74 jours.
- 2) Poids : les chutes sont importantes et dépassent parfois 50 % de la valeur pondérale initiale.
- 3) Globulie : l'animal n° 1 est douteux car sa chute globulaire est de l'ordre des variations spontanées.

Les sept autres animaux ont accusé une anémie parfois considérable (rat 4); celle-ci apparaît nettement entre le 35ème et le 50ème jour.

4) Hémoglobine et valeur globulaire :

Le taux de l'hémoglobine baisse régulièrement (peu chez les animaux 1 et 2); mais cette chute est beaucoup plus accusée que celle des globules. La conséquence en est l'hyperchromie qui apparaît également brusquement au moment de la chute globulaire massive.

5) Réticulocytes :

Leur numération est sans intérêt chez les animaux 1 et 2 mais chez les autres nous voyons une brusque poussée au moment de la constitution de l'anémie hyperchrome. Par la suite, le taux baisse et les chiffres finaux sont inférieurs à ceux du début.

6) Molle osseuse :

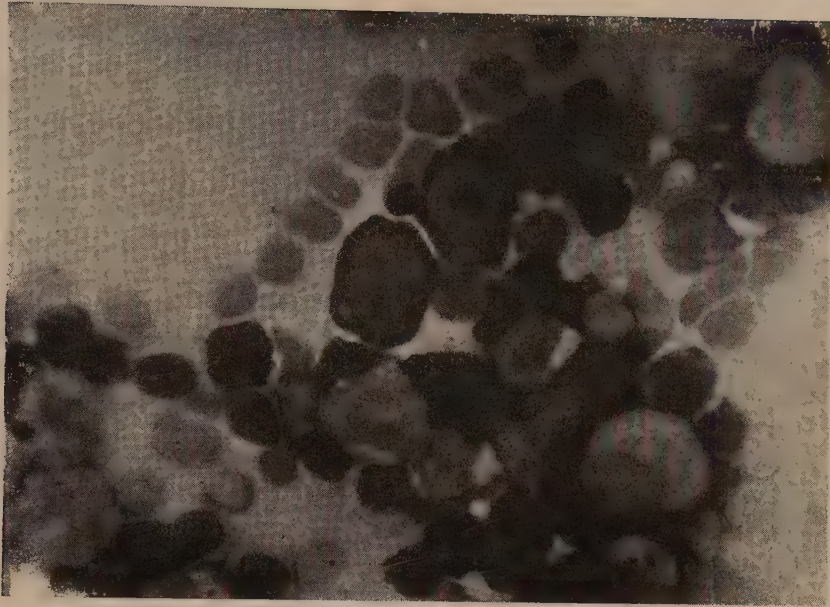
Animaux 1 et 2 : Réaction normoérythroblastique avec légère régression de maturation dans la lignée rouge.

Autres animaux : Ils ont révélé des aspects extrêmement intéressants. En premier lieu, la réaction normoérythroblastique est dans l'ensemble peu intense, mais on voit la maturation subir une régression importante. Les éléments nucléés de la lignée rouge sont des érythroblastes basophiles de grande taille, (10 à 12 μ), à maturation parfois irrégulière. A côté d'eux, beaucoup de cellules proérythroblastiques de 15 μ et plus, à protoplasme basophile net et dont le volumineux noyau comporte des masses chromatiniennes assez grossières, tranchant sur un fond plus clair que celui du proérythroblaste. Enfin, nous avons découvert de rares cellules dont la maturation était encore plus inhibée. Leur taille atteint et dépasse 20 μ . Leur protoplasme est très basophile. Quant au noyau, il a déjà l'aspect pointillé du mégalo-blaste; son fond est assez pâle. Sont-ce des mégalo-blastes ? Nous n'oserons l'affirmer mais il est évident qu'ils en sont très proches surtout par la taille et l'aspect de ce noyau.

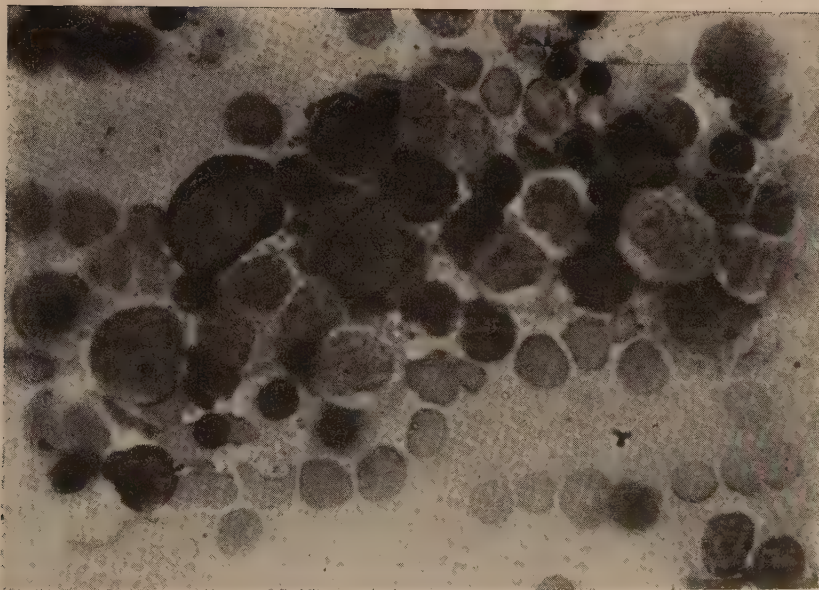
Une telle affirmation est d'une importance capitale, on le conçoit; plusieurs raisons nous incitent à ne pas la formuler nettement :

En premier lieu, leur nombre. Ces éléments sont rares. Or, au cours de l'anémie pernicieuse constituée, les mégalo-blastes sont abondants dans la moelle. En second lieu, nous n'avons jamais pu mettre en évidence les mégalo-cytes. Il existe bien des macrocytes et des microcytes mais jamais de ces énormes hématies bourrées d'hémoglobine. On conçoit mal comment des mégalo-blastes vrais donneraient par évolution des hématies autres que des mégalo-cytes.

— — — — —

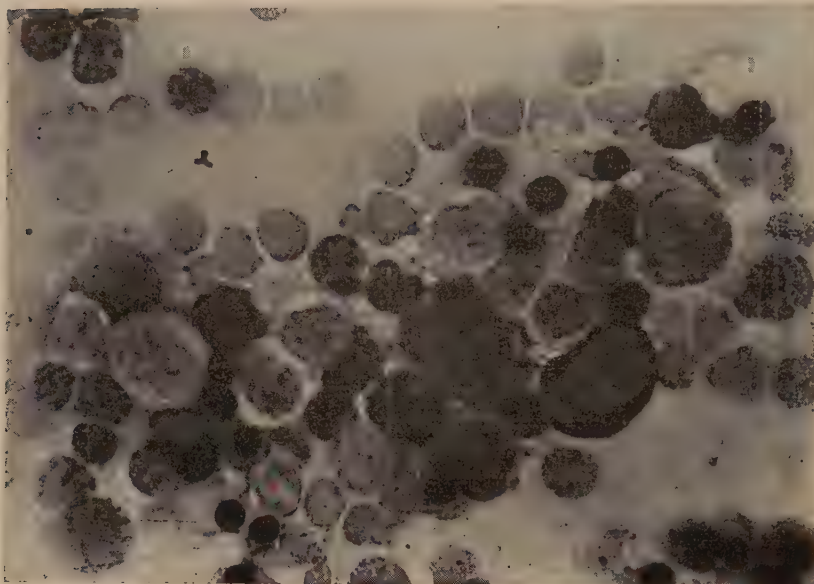


Carence folliculaire complexe
Moelle osseuse [x 930]

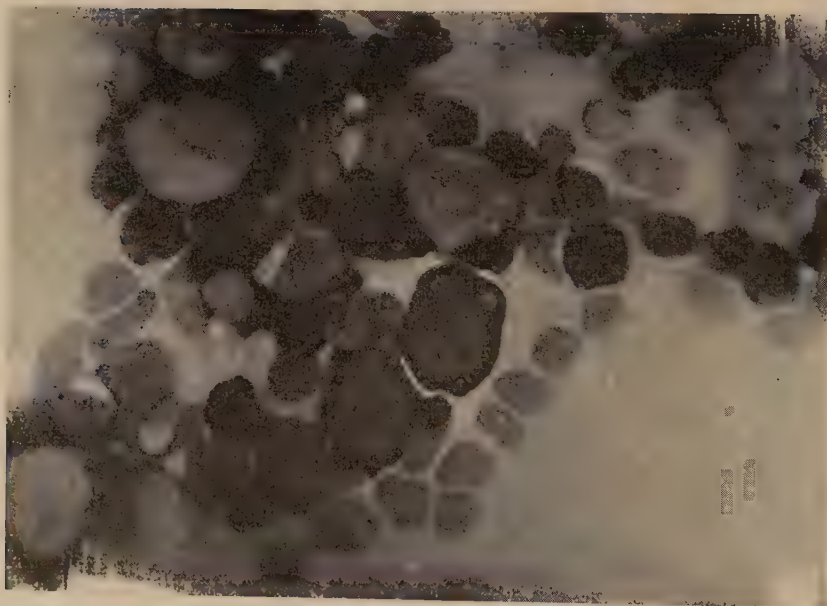


Carence folliculaire complexe
Moelle osseuse [x 930]

Carence folique complexe
Moelle osseuse [x 930]



Carence folique complexe
Moelle osseuse [x 930]



CHAPITRE X

CONCLUSIONS RELATIVES AUX ANEMIES PAR CARENCES

-1-1-1-1-1-1-

Nous excluons de ce résumé les anémies saturnines car l'hypothèse selon laquelle elles pourraient être rattachées à une inactivation du principe intrinsèque n'est guère solide. En effet, on peut obtenir par voie parentérale les résultats auxquels nous sommes arrivés au moyen de la voie orale. Il s'agit plutôt d'une action toxique propre sur les organes hématopoïétiques. Ceci n'enlève d'ailleurs rien à l'intérêt présenté par leur étude qui doit être placée sur un plan différent de celui que nous envisageons ici. Les travaux de LOURAU que nous verrons surtout au chapitre suivant prouveront que les anémies saturnines considérées dans le cadre du titrage du principe antipernicieux sont susceptibles de rendre des services indéniables. Au cours du travail relaté dans les quatre chapitres précédents, nous avons surtout étudié ce que pourrait être le principe extrinsèque, à l'exclusion peut-être de nos recherches sur les anémies au trioxyméthylène qui visaient également le principe intrinsèque.

L'acide pantothénique, envisagé seul, semblait autoriser quelques espoirs mais les résultats ont été en réalité décevants bien que les carences soient accompagnées d'anémies. Les études faites sur l'homme n'ont pas été non plus très encourageantes. Il s'avère impossible de faire remonter le chiffre des globules rouges à la normale. Cependant, chez deux biermériens traités au préalable par des extraits hépatiques qui avaient fait remonter le chiffre de numération globulaire aux environs de 4.000.000, nous avons expérimenté le pantothénate de calcium¹¹ per os¹² comme cure d'entretien. Alors que ces malades ne pouvaient rester qu'une quinzaine de jours privés de traitement hépatique sans encourir la certitude d'une rechute, nous avons pu conserver intact leur chiffre de globulie pendant plus d'un an avec 0,06 g. de ce produit par jour. C'est là un fait d'expérience qui n'est pas sans intérêt.

L'influence des protides sur l'hématopoïèse nous retiendra peu, après ce que nous avons dit. Le travail d'ASCHKENAZY conclut à une anémie plastique. Définir le rôle exact des protides considérés dans leur ensemble n'est pas chose facile. Il semble bien qu'ils rentrent plutôt dans la formation de l'hémoglobine. Mais si l'hémoglobine ne peut se synthétiser convenablement dans l'organisme, il devient malaisé

d'entrevoir une maturation normale des hématies. Cependant, faire des protides ou de leurs aminoacides constitutifs des principes de maturation apparaît, actuellement du moins, comme une idée assez discutable.

L'association des carences protides-acide pantothéniques fait penser à la potentialisation de l'action de certains toxiques dans l'organisme. L'un et l'autre associés réalisent ce que chacun ne pouvait faire à lui seul. Nous avons vu aussi comment la réunion des deux carences pouvait créer une régression de maturation jusqu'au proérythroblaste.

Il est inutile d'insister sur le rôle de l'acide folique seul qui apparaît vraiment, comme un principe de maturation. La carence folique associée à celles des protides et de l'acide pantothénique réalise une complication nouvelle pour l'hématopoïèse de l'animal soumis à ces conditions. Nous avons vu que nous obtenions ainsi une anémie sévère, hyperchrome, avec une régression de maturation des éléments rouges de la moëlle jusqu'à un stade inconnu jusqu'ici.

Est-ce là la fin du problème ? Assurément pas. Nous n'avons pas la prétention d'avoir réalisé une anémie de Biermer expérimentale. Il manque, pour nourrir cet espoir, une donnée sur laquelle nous reviendrons dans la conclusion générale de ce travail en envisageant des hypothèses d'expérimentation future.

CHAPITRE XI

ESSAIS D'APPRECIATION DE L'ACTIVITE ANTI-PERNICIEUSE

Paragraphe 1 - POSITION DU PROBLEME ET DONNEES RECENTES.

Nous avons dit, au cours du chapitre III, les difficultés et les échecs rencontrés dans cette voie. Il faut en effet être très strict quant à la qualité de l'activité que l'expérimentateur essaie de doser. Il ne suffit pas en effet de créer une anémie expérimentale chez l'animal et de vérifier que celle-ci s'amende par un traitement hépatique pour espérer mettre au point cette difficile question. Nous savons, en effet, que les extraits hépatiques les mieux purifiés renferment au moins 10 % de principe actif dans les anémies banales, par régénération d'hémoglobine. Or, le problème est de trouver un réactif animal tel qu'il reste indifférent à ce principe tout en réagissant quantitativement au principe antipernicieux.

Les travaux effectués dans ce sens depuis plusieurs années ne nous viennent pas des Etats-Unis malgré l'importance des recherches sur l'hématopoïèse entreprises par ce pays, étant donné que les essais sont réalisés sur l'homme. Aussi ferons-nous état, à juste titre, de travaux français (LOURAU) sur l'anémie saturnine comme test (92-93-94-95-96).

Nous avons déjà vu comment cet auteur avait précisé l'évolution de l'anémie obtenue (93-95) et apporté certains arguments en faveur de l'identité du principe antipernicieux et de celui responsable de la guérison de l'anémie saturnine (93). Une étude soigneuse des réactions hématologiques du lapin intoxiqué par voie intraveineuse et traité par injection d'extrait hépatique par la même voie a permis à LOURAU de mettre en évidence un test d'activité constant, à savoir l'abaissement de la valeur globulaire. Celle-ci étant notée en valeur relative, c'est-à-dire égale à 1 pour 100% d'hémoglobine et 5.000.000 d'hématies par mm³, les rémissions spontanées sont au maximum de 0,14 à 0,18. Avec l'administration d'extrait hépatique, les chutes de valeur globulaire peuvent atteindre 0,57.

Une autre notion importante mise en évidence par LOURAU est celle du seuil d'activité. Les réponses de l'animal à l'injection d'extrait hépatique ne sont pas en effet proportionnelles aux quantités administrées comme c'est le cas (en principe, du moins) chez le bierme rien. Mais, le seuil d'activité est nettement tranché et l'auteur serait arrivé à obtenir des réponses avec une quantité "a", avec absence de réponse pour "0,99 a", ce qui donnerait une précision de 1 pour 100.

Enfin, les doses inactives ne modifient pas l'aptitude aux réponses ultérieures, même si elles sont voisines de la dose seuil. Par ailleurs, l'auteur fait remarquer que les réponses sont indépendantes de l'animal, des doses de plomb nécessitées pour l'obtention de l'anémie, de l'ancienneté de celle-ci de l'hyper ou de l'hypochromie et du volume sous lequel est injecté l'extrait hépatique. Une unité lapin a été définie de cette façon.

Cette technique a été modifiée récemment (96) par son auteur même qui préfère employer la voie buccale pour l'intoxication, les variations spontanées de valeur globulaire étant moins importantes.

Quant à la réponse de l'animal, sa fugacité nécessite des numérations globulaires et des dosages d'hémoglobine répétés au cours d'une journée. L'application des résultats est délicate et demande de l'expérience.

N'ayant pas expérimenté les techniques proposées par LOURAU, nous ne nous jugeons pas qualifié pour porter un jugement à leur égard. L'avenir nous en révélera leur portée exacte.

Paragraphe 2 - TRAVAIL PERSONNEL

Si nous plaçons à la fin de ce livre notre contribution à l'étude du dosage du principe antipernicieux, ce n'est nullement pour respecter un ordre chronologique car nos premiers essais remontent à 1942. Ils portent sur l'étude de la crise réticulocytaire chez le rat normal. Avant de les relater, nous voudrions dire que chez le rat, notre animal d'expérience, de nombreuses tentatives faites sur les animaux anémisés soit au plomb, soit au trioxyméthylène, ne nous ont pas donné satisfaction.

A) Rappel sur la crise réticulocytaire chez l'animal normal.

Elle a été décrite par SINGER (146) en 1935. Elle consiste en une injection sous-cutanée de suc gastrique. Dans le cas d'un suc gastrique d'homme normal, on observe une crise réticulocytaire dans les jours qui suivent; s'il s'agit d'un biermerien, il ne se produit rien.

D'autres animaux ont été essayés (cobaye, lapin, pigeon) mais ils donnent des résultats moins satisfaisants. SINGER conseille de prendre des animaux de 150 à 200 grammes (donc pratiquement adultes), dont le chiffre de réticulocytes est de l'ordre de 15% et d'éliminer ceux dont le chiffre trop élevé est en rapport le plus souvent avec une anémie à Bartonella, fréquente chez le rat. Le régime doit être uniforme et bien équilibré; dans ces conditions, les variations journalières sont comprises entre 2 et 10%. L'expérience consiste, après injection, à effectuer des numérations pendant plusieurs jours, en réduisant les prises de sang au minimum pour éviter les petites poussées

réticulocytaires post-hémorragiques. Une étude des réactions obtenues avec un certain nombre de sucs gastriques a été reprise en 1937 par RAMBERT (130). Telles sont les données classiques sur lesquelles nous avons commencé notre travail.

B) Choix de l'animal :

Nous n'avons pas jugé utile de reprendre l'expérimentation sur les animaux autres que le rat qui avaient été essayés avant nous. Nous avons simplement tenté l'utilisation de la souris (car nous prévoyions une méthode statistique) mais ce fut de courte durée étant donné les difficultés de se procurer facilement les quantités de sang nécessaires. De plus, le volume global de sang de cet animal est par trop réduit si on le compare aux prises nécessaires.

C) Le chiffre normal des réticulocytes chez le rat

Il existe de grandes différences suivant les auteurs. Citons quelques chiffres d'après KOO (83)

0 à 6% (GEBHARDT & CARIO)

0 à 16 % (OVERBECK)

1 à 15 % (SEYDERHELM)

30 à 40 % (NICOLLE)

24 % (RAMBERT)

10 à 15 % (SINGER).

Notre expérience personnelle porte sur environ 350 animaux. Les taux les plus fréquemment rencontrés oscillent entre 12 et 20 % avec un taux "normal" de 15 %. Nous n'avons jamais trouvé de chiffre inférieur à 5% ni supérieur à 38 %. Seul est important à considérer ce dernier, étant donné qu'on se propose l'étude d'une ascension du taux. Les animaux à chiffres élevés (anémie à Bartonella ?) réagissent en général très mal aux extraits hépatiques, mais nous ne suivons pas complètement RAMBERT (130) qui pense que les réponses sont d'autant plus intenses (du moins avec le suc gastrique) que le chiffre primitif est plus bas. Quoiqu'il en soit, nous jugeons qu'il ne convient pas d'utiliser pour l'expérimentation des rats ayant un taux supérieur à 20 %.

D) Les crises réticulocytaires "spontanées".

C'est un des premiers reproches que l'on puisse faire à la technique. En effet, le taux des réticulocytes chez le rat normal subit des fluctuations physiologiques.

En premier lieu, il est rare de voir des animaux rester longtemps avec des chiffres très bas. Il y a une tendance vers la stabilisation au taux de 15 %/°. Quant aux animaux à réticulose élevée, leur tendance au retour à la moyenne est beaucoup moins accusée si on les conserve dans les mêmes conditions. Toutes ces raisons militent en faveur de l'élimination des animaux n'ayant pas un chiffre de réticulocytes compris entre 10 et 20 %/°. Mais, comment se comportent ces rats quand ils sont utilisés comme témoins au cours d'expériences ?

En empiétant un peu sur ce qui sera exposé plus loin, il nous faut dire que les animaux soumis aux essais doivent subir un certain nombre de prises de sang, approximativement six, éloignées de 48 heures, puis 5, espacées de 24 heures. Il est donc à craindre que les petites hémorragies puissent conduire à des crises réticulocytaires de réparation.

Une étude très intéressante a été faite pour l'homme sur ce sujet par PIECHL (123) qui a montré que le réveil de la moëlle osseuse se faisait pour une saignée de 100 grammes. Cette quantité correspond environ à $\frac{1}{60}$ de la masse sanguine normale. Par une transposition (artificielle mais tout de même intéressante) à un rat de 200 grammes ayant un volume sanguin d'environ $\frac{200}{12} = 16,6 \text{ cm}^3$, on arrive à la notion d'une soustraction sanguine limitée de $\frac{16,6}{60} = 0,27 \text{ cm}^3$. Cette quantité est importante et jamais on ne peut se prétendre à l'obtenir par section de la queue. Mais, il ne faut pas oublier que les résultats de PIECHL visent une saignée UNIQUE, condition bien différente des nôtres.

La quantité de sang nécessaire à une numération de réticulocytes est minime (0,01 cm³ peut parfois suffire) mais, dès que la plaie est faite, le sang, qui, au début tardait un peu à venir, continue d'affluer plus qu'on ne le désire, d'où la nécessité d'une hémostase soigneuse pour éviter l'hémorragie post-traumatique.

Nous nous sommes arrêté quelque temps à l'étude des hémostatiques à employer. Il en est un qu'il convient de proscrire de suite, c'est le perchlorure de fer. La solution habituelle contient environ 9 % du métal et une goutte placée sur la section caudale serait susceptible d'introduire dans le courant circulatoire une quantité appréciable de fer. Or, celui-ci peut à doses importantes et par voie parentérale, provoquer des petites crises réticulocytaires. Nous avons, pour des raisons du même ordre, rejeté le sérum d'animaux en état d'anaphylaxie, qui possède cependant d'excellentes propriétés coagulantes. L'adrénaline, en solution à 1 %/° est un très bon moyen mais son action s'atténue vite pour devenir parfois nulle au 5 ou 6^{ème} essai. L'antipyrine en solution aqueuse à 40 % et la pectine associée à des sels de calcium nous ont donné de bons résultats. Enfin, la teinture d'iode s'avère indispensable surtout pour ses propriétés antiseptiques, mais elle joue également le rôle d'hémostatique. En pratique, nous l'utilisons surtout avec l'antipyrine et arrivons ainsi à réduire la soustraction sanguine à sa

plus simple expression.

Nous avons, en travaillant dans ces conditions, expérimenté un assez grand nombre de rats adultes choisis avec les précautions indiquées plus haut, en vue d'apprécier l'importance des variations du taux de réticulocytes. Les résultats sont consignés dans les tableaux suivants :

Tableau 56

RATS	Taux de réticulocytes pour 1000 hématies les jours :										
	1	3	5	7	9	11	12	13	14	15	16
1	10	12	11	9	9	14	14	12	14	11	14
2	14	11	15	13	18	15	16	14	17	18	15
3	10	9	13	15	17	13	14	12	13	16	11
4	10	11	12	10	11	12	9	10	x	11	11
5	13	9	10	11	11	16	15	13	12	17	19
6	14	15	15	14	13	13	14	x	13	13	14
7	17	19	23	26	24	21	18	25	20	26	23
8	13	12	15	12	16	18	14	12	15	18	16
9	16	15	17	19	16	15	13	14	12	15	21
10	14	16	15	18	14	x	16	17	15	19	19
11	12	11	12	12	12	x	11	12	11	10	12
12	14	13	13	15	16	14	13	16	16	15	16

Tableau 57

13	18	20	19	17	19	18	21	19	21	20	21
14	13	15	16	15	x	20	17	15	20	19	17
15	16	14	16	15	18	16	14	19	18	19	19
16	15	15	14	16	18	19	20	19	17	20	20
17	15	15	16	13	18	20	16	20	17	20	19
18	14	13	10	13	15	13	12	x	14	15	15
19	17	19	21	19	21	17	20	18	21	17	21
20	13	15	15	18	x	17	18	16	14	16	18
21	16	15	17	14	16	x	17	18	19	19	18
22	15	12	16	17	14	18	14	15	x	18	18
23	18	20	19	22	19	17	x	20	17	15	16
24	14	14	x	19	16	14	16	13	18	15	12
25	16	17	19	16	15	18	24	17	x	24	19

L'examen de ces tableaux montre que pratiquement le chiffre de réticulocytes monte toujours légèrement. Si nous avions fait en même temps l'essai d'un produit anti-anémique, nous l'eussions administré le jour 4, après deux numérations de réticulocytes en cherchant ensuite le taux maximum de réticulocytes obtenu dans les 12 jours suivants. Si, sur ces 25 animaux, nous effectuons la moyenne des deux premières numérations (c'est-à-dire durant la période avant l'administration du produit chez les animaux essais) et que nous la retranchons du chiffre maximum obtenu entre le 4ème et le 16ème jour, nous obtenons le chiffre moyen de 4,18.

Si nous en sommes venus à cette méthode statistique, c'est bien par nécessité car un seul coup d'oeil jeté sur ces chiffres montre que les variations du taux de réticulocytes changent beaucoup d'un animal à l'autre (- 0,5 chez le rat 6 et + 8 chez le rat 5). Il est donc impossible de faire un essai sur un seul animal.

Par ailleurs, nous devons insister sur le fait que ces résultats ne peuvent être obtenus qu'avec des soins particuliers : nourriture uniforme et abondante, prises de sang aux mêmes heures de la journée, animaux adultes et surtout chiffres de réticulocytes normaux au départ. En effet, chez des rats ayant au jour 1 un taux de 35 ‰, les écarts peuvent atteindre 20 ‰.

Cette étude préliminaire achevée, nous nous sommes préoccupé des résultats obtenus au cours d'essais de produits antipernicieux. Mais, il nous faut d'abord soulever brièvement la question de la spécificité de la crise réticulocytaire.

E) La spécificité de la crise réticulocytaire.

Il existe en faveur de cette spécificité l'argument de valeur qu'est la positivité des réponses obtenues avec l'injection au rat de suc gastrique d'individu normal et l'absence de réponse avec ce lui d'un biernérien. Ce dernier étant "achylique" c'est-à-dire pratiquement dépourvu d'acide chlorhydrique et d'activité pepsique, il a été fait également des essais avec des sucs gastriques d'"achyliques" non atteints d'anémie pernicieuse : les résultats ont été positifs.

Un autre argument en faveur de ce test réside dans le fait qu'il possède au moins quelque rapport avec ce qui est observé dans l'affection humaine : la poussée réticulocytaire est en effet la véritable pierre de touche de l'activité régénératrice de la moelle osseuse sous l'influence du principe antipernicieux.

Mais, par contre, que de critiques ! La première est que l'essai est effectué sur un animal normal et non anémique. Nous ne la retiendrons pas car, ne peut-on doser très correctement l'insuline chez un lapin au pancréas intact ou l'adrénaline chez le chien non surrénalectomisé ?

Beaucoup plus importantes, à notre avis, sont les expérimentations faites en vue de provoquer des crises réticulocytaires par autre chose que le principe antipernicieux. Ont été accusés ainsi la pepsine, toutes les protéines étrangères, le fer, l'arsenic..... On a même dit que la simple injection de solution salée ou glucosée isotonique pouvait provoquer des crises réticulocytaires. En fait, ces données sont loin d'avoir toutes la même valeur.

Le fer est susceptible de donner des crises réticulocytaires quand il est administré par voie parentérale. Elles sont précoces et surtout exigent des quantités de métal importantes qui ne sont pas en rapport avec celles qui pourraient être trouvées dans un extrait hépatique. Quant aux autres produits incriminés, ils n'ont jamais donné de résultats bien nets. L'arsenic injecté reste sans effet. Quant à la pepsine et aux protéines étrangères, elles sont surtout génératrices de choos par injection parentérale. Il est très probable que les résultats signalés ont été trouvés chez des animaux peut-être moins soigneusement sélectionnés que les nôtres. Pour ce qui touche aux injections salées et glucosées, nous avouons n'avoir jamais constaté le phénomène. Il semble donc que les critiques adressées au test de SINGER aient été peut-être un peu exagérées; mais, en fait, quels sont les résultats obtenus avec les extraits hépatiques ?

F) Les injections d'extraits hépatiques :

Au cours de notre travail, nous avons presque exclusivement utilisé des extraits hépatiques purifiés, contrôlés cliniquement sur le biermerien, sans toutefois donner lieu à un dosage selon la technique américaine. Mais, les conditions matérielles assez difficiles de la période 1942-1946 nous ont empêché de réunir un stock standard suffisant pour un travail de longue durée. Aussi, est-ce seulement à la suite d'une série assez importante d'essais qui ne comportent pas moins de 2000 numérations de réticulocytes que nous avons fait les remarques suivantes.

Dans nos premiers essais d'injection sous-cutanée d'extrait hépatique, nous avons calculé la quantité à administrer en tenant compte du poids corporel. Les rats pesant environ 200 grammes, nous leur injections, en tenant compte du poids moyen d'un homme adulte (65 kgs), environ $\frac{1}{325}$ de la dose humaine. Nous n'avons obtenu aucune réponse dans ces conditions, pas plus d'ailleurs qu'en augmentant ces doses prudemment. Aussi, passant au-dessus de toutes ces expériences de tâtonnement, nous dirons que nous nous sommes aperçu de la nécessité d'injecter non pas $\frac{1}{325}$ mais $\frac{1}{4}$ de la dose humaine.

C'est là un premier fait digne d'être noté mais dont la cause reste obscure. On pourrait à la rigueur penser que le système hématopoïétique normal, c'est-à-dire recevant chaque jour les principes nécessaires à son fonctionnement, ne s'ébranle que sous le coup d'excitations importantes. Mais, au fur et à mesure que ces constatations

prénaient corps, d'autres peu encourageantes devenaient évidentes. En premier lieu les réponses des animaux étaient extrêmement disparates : certains accusaient de fortes crises et d'autres ne répondaient pas. De plus, les extraits hépatiques, même purifiés, ayant une composition assez complexe, nous observions très souvent chez nos animaux des chocs violents dans l'heure suivant l'injection (agitation, convulsions, hérissement du poil) suivis fréquemment de mort. La méthode devenait difficilement praticable.

L'injection intramusculaire ou intrapéritonéale ne nous ayant pas conduit à de meilleurs résultats, nous avons préféré abandonner ce mode opératoire pour nous tourner du côté de l'administration "per os".

G) L'administration par voie buccale.

Celle-ci devait nous montrer que les quantités suffisantes par voie parentérale s'avéraient une fois de plus trop faibles, soit du fait d'une résorption incomplète ou d'une destruction digestive. Nous avons été ainsi conduit à utiliser des quantités de l'ordre de la moitié de la dose humaine.

Les animaux buvant mal avec une pipette et occasionnant des pertes, ou certains tolérant difficilement la sonde gastrique, nous avons opté pour un procédé plus naturel consistant en un mélange du produit avec l'alimentation. Afin de la faire absorber assez rapidement, nous avons mis nos rats à la diète douze heures auparavant. Nous avons aussi vérifié que l'absorption se produisait convenablement et que les fortes doses d'extrait hépatique n'engendraient pas de choc comme c'était le cas par voie parentérale. De plus, nous pouvions déjà constater que, dans certaines limites, les réponses devenaient plus régulières. Ce que nous perdions en sensibilité par rapport à la voie sous-cutanée (la réponse exigeant plus de produit), nous le regagnions en régularité.

H) La précision dans l'appréciation du maximum de crise.

Au début de notre travail, nous avions l'habitude d'effectuer les numérations de réticulocytes toutes les 48 heures après l'administration du produit, pendant 12 à 15 jours. La crise réticulocytaire se promettait entre le 8ème et le 12ème jour, mais pas fatalement le 10ème jour comme on le croit trop volontiers. Or, il était évident que les numérations des sept premiers jours importaient peu mais que celles des 8, 10 et 12ème jours étaient capitales pour l'appréciation du maximum de la crise. Que se passait-il les 9, 11 et 13ème jours ? Une série d'examen nous montrèrent la nécessité d'évaluer la réticulocytose tous les jours et non tous les deux jours afin de serrer le problème de plus près. Un examen des tableaux de résultats des pages suivantes en donne la démonstration.

L) Influence de l'âge et du poids des animaux :

Enfin, un certain nombre d'essais effectués avec des jeunes animaux (90 à 100 grammes); que nous avons utilisés faute de mieux, nous montrèrent que si les réponses étaient parfois plus incenses, elles s'avéraient par contre beaucoup plus irrégulières. Il convenait donc de faire usage d'animaux adultes ayant environ 200 grammes au minimum.

1° Essai d'appréciation quantitative

Toute cette longue expérimentation conduite par étapes commençait à nous faire entrevoir une possibilité de résultats quantitatifs. Néanmoins, il restait nécessaire d'opérer toujours sur plusieurs animaux étant donné ce qu'on sait de l'inconstance du réactif animal dans certains domaines.

Quant à l'appréciation de la crise réticulocytaire obtenue, nous l'avons envisagée comme suit :

Les animaux témoins montrent une augmentation moyenne de leur taux de réticulocytes égale à 4,18 %/°. Les chiffres décimaux dépassant les possibilités de l'expérience, nous pouvons nous en tenir à la valeur de 4 %/°. Faisons le même calcul avec les animaux "essais", c'est-à-dire la différence entre, d'une part, la moyenne des maxima de crise réticulocytaire après ingestion et, d'autre part, la moyenne du taux de réticulocytes avant l'administration du produit : soit N.

Nous avons convenu d'appeler la valeur (N-4) Index réticulocytaire absolu. Elle chiffre l'importance de la réponse.

J) Expérimentation en vue d'une appréciation quantitative

Nous avons opéré sur 25 animaux répartis en cinq groupes de cinq. Après deux numérations de réticulocytes, nous avons fait absorber aux rats de chaque groupe une quantité déterminée d'un extrait hépatique reconnu actif dans l'anémie pernicieuse.

Rats 1 à 5	:	0,5 cm ³	d'extrait par 200 g. de poids corporel
" 6 à 10	:	0,75 "	" " " " " "
" 11 à 15	:	1 cm ³	" " " " " "
" 16 à 20	:	1,25 "	" " " " " "
" 21 à 25	:	1,50 "	" " " " " "

Les numérations de réticulocytes ont été faites avec les précautions habituelles pendant les quinze jours suivant l'ingestion. Les résultats sont consignés dans les deux tableaux suivants :

Tableau 58

Taux de réticulocytes pour 1000 hématies les jours :

	Rats	1	3	4	7	9	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Ingestion	1	8	9		9	10	12	15	14	12	15	18	13	15	11
de 0,5 cm ³	2	11	14		12	12	10	11	8	13	17	21	18	12	8
pour 200 g.	3	9	12	jour	11	14	13	12	16	18	14	15	12	11	13
de poids	4	11	8	de l'in-	9	11	12	11	17	20	24	21	18	14	15
corporel.	5	14	10	gestion	12	11	16	15	16	21	23	19	15	17	12
Ingestion	6	15	13		14	16	13	15	17	21	32	28	19	17	12
de 0,75 cm ³	7	10	10	jour	9	11	15	12	18	24	24	20	21	17	9
pour 200 g.	8	14	10	de l'in-	12	12	15	17	14	16	19	30	17	15	13
de poids	9	13	14	gestion	15	18	22	25	26	30	30	21	17	12	13
corporel	10	18	18		20	17	15	21	25	21	19	27	15	13	11
Ingestion	11	10	11		8	13	12	16	14	20	24	30	22	14	11
de 1 cm ³	12	9	10	jour	12	8	11	9	15	26	31	30	24	19	12
pour 200 g.	13	11	13	de l'in-	9	10	14	13	11	15	18	22	28	23	17
de poids	14	7	10	gestion	13	14	11	8	14	15	18	27	21	18	14
corporel	15	9	12		13	11	15	13	19	21	25	24	20	16	12

Tableau 59

Ingestion	16	10	12		13	11	15	14	13	41	38	30	19	16	9
de 1,25 cm ³	17	14	14	jour	16	19	15	14	31	31	19	16	15	13	15
pour 200 g.	18	10	9	de l'in-	9	11	13	10	12	15	16	36	16	14	12
de poids	19	12	10	gestion	10	14	12	11	13	19	35	30	16	13	10
corporel	20	16	14		18	15	17	14	15 $\frac{1}{2}$	38	20	21	17	15	13
Ingestion	21	11	12		12	8	14	17	21	30	25	20	16	11	14
de 1,5 cm ³	22	13	10	jour	11	14	18	24	19	41	60	62	74	65	58
pour 200 g.	23	8	9	de l'in-	13	10	12	8	12	19	25	32	23	17	18
de poids	24	10	12	gestion	8	9	13	17	24	30	45	67	51	43	37
corporel	25	14	15		12	13	17	15	18	22	30	24	43	37	31

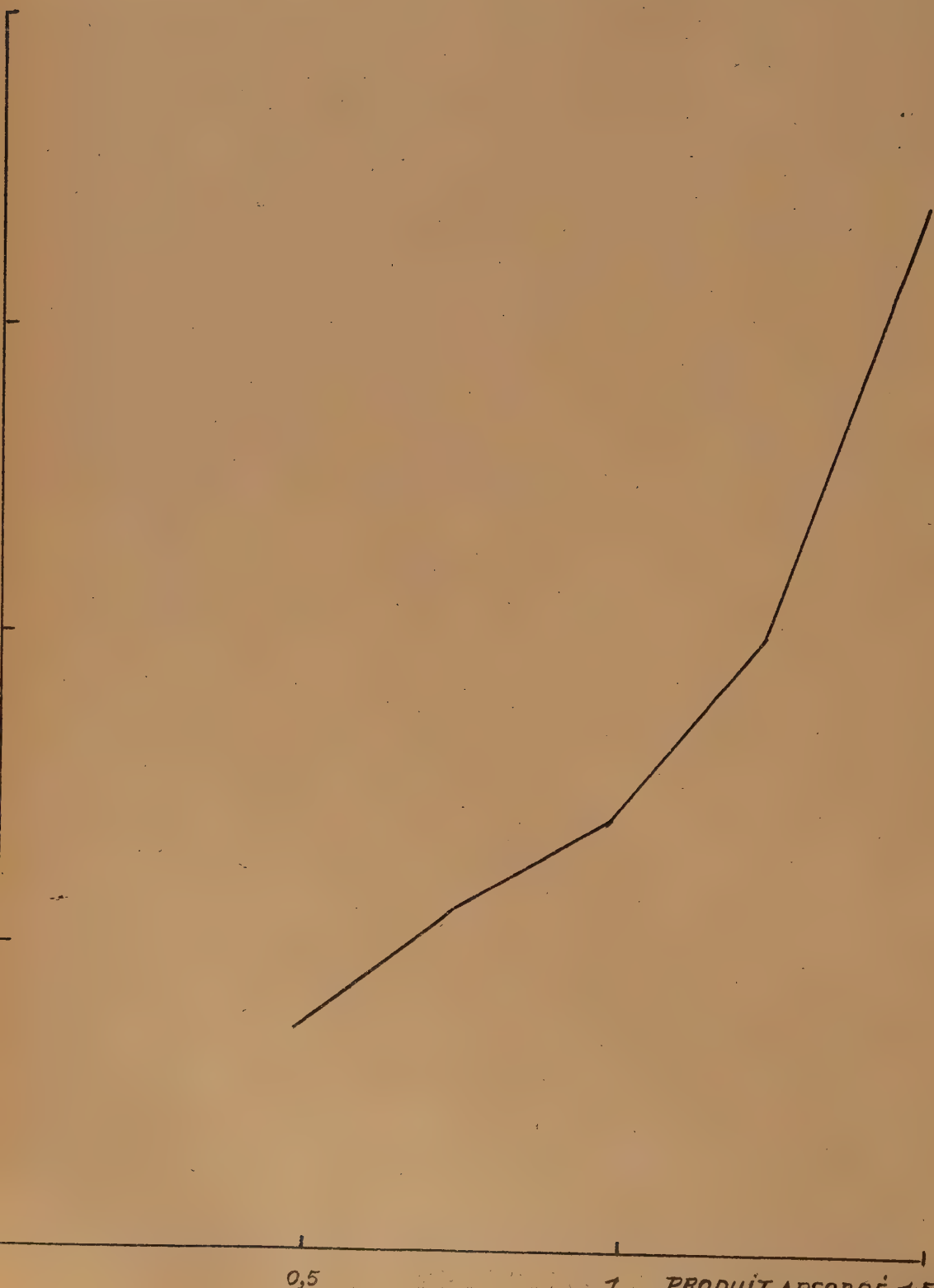
Discussion des résultats.

La lecture de ces tableaux serait rendue assez difficile en dehors de la détermination de l'index réticuloocytaire absolu. Le calcul de celui-ci pour chaque groupe donne les résultats suivants :

Index réticuloocytaire absolu

Rats 1 à 5.....	6,2
Rats 6 à 10.....	11,1
Rats 11 à 15.....	14,0
Rats 16 à 20.....	20,1
Rats 21 à 25.....	33,8

Transcrivons ces résultats sur une courbe :



Les cinq points se placent sur une courbe avec une régularité qui n'a évidemment rien de mathématique, comme il fallait s'y attendre. Cependant, il est incontestable qu'il existe une corrélation entre l'excitation et la réponse. Une restriction doit cependant être faite : elle tient au résultat obtenu avec le cinquième groupe d'animaux. Les réponses individuelles perdent beaucoup de leur régularité et l'index réticulocytaire absolu, bien que satisfaisant en apparence, l'est peut-être beaucoup moins en réalité. Aussi pensons-nous qu'il convient de ne pas rechercher de réponse de cette intensité. Inversement, il ne faut pas non plus administrer des doses trop faibles de produit car les réponses minimales sont difficiles à apprécier de façon précise. La numération des réticulocytes est une opération longue et minutieuse : il ne faut pas la compliquer encore.

Personnellement, nous pensons que le résultat à obtenir est un indice réticulocytaire de 15 à 20. Dans cette zone, l'ensemble des animaux répond de façon sensiblement homogène.

Il reste maintenant une question délicate à aborder. La crise réticulocytaire peut-elle être d'une utilité pour la détermination de l'activité antipernicieuse ? Il nous semble bien que oui, mais il faut apporter à cette affirmation quelques restrictions capitales.

S'il s'agit d'un "extrait hépatique" dont on ignore la préparation et la composition (contrôle d'un produit inconnu par exemple), la détermination de l'index réticulocytaire est d'un intérêt réduit. En effet, le produit peut-être additionné de sels de fer (il en faudrait d'ailleurs une quantité assez notable) susceptibles d'interférer et d'induire en erreur l'expérimentateur. Celui-ci doit inévitablement contrôler son travail par une détermination chimique de ce métal dans le produit à analyser. Nous ne soulèverons pas ici la question de l'influence de l'acide pantothénique qui sera examiné dans la conclusion générale de notre travail. Cependant, une deuxième difficulté surgit : combien doit-on administrer de produit à l'animal pour déterminer la réponse optimum ? Il est impossible de la connaître a priori. Ce n'est qu'après des essais préliminaires qu'elle peut-être évaluée mais, si on réfléchit à ce fait qu'un essai demande trois semaines, on saisit de suite la complexité du problème. Il ne peut être question non plus de se fier à la quantité de foie correspondant à une unité de volume de l'extrait car tout dépend du mode de préparation.

Néanmoins, l'ensemble de notre travail permet une première approximation de valeur. Le produit qui a servi à l'établissement de notre courbe est actif chez le biernérien à la dose de 2 cm³ par jour. La réponse que nous désirons chez le rat est obtenue avec 1 cm³ ou 1,25 cm³. Il est facile, dans le cas d'un extrait inconnu à examiner, de le faire absorber à l'animal au taux d' $\frac{1}{2}$ dose humaine. L'évaluation de l'index réticulocytaire donnera déjà une approximation. C'est d'ailleurs ce que nous faisons habituellement.

Quel est maintenant l'intérêt de cette méthode pour des recherches futures ? Il est aisé de le reconnaître. La détermination de l'index peut très bien rentrer dans le cadre d'une étude de fractionnement d'un extrait hépatique en vue de l'isolement éventuel du principe antipernicieux. Il suffit de faire une fois pour toutes un dosage sur l'extrait qui doit servir de point de départ et de fixer la quantité qui donne une réponse de l'ordre de 15 à 20. Les fractionnements ultérieurs doivent séparer deux parties dont on peut prévoir approximativement l'activité. Il est évident qu'un travail de cet ordre bénéficierait d'une étude faite sur 10 animaux au lieu de 5 : la valeur des résultats y gagnerait mais il faudrait, en dehors du temps nécessaire, des moyens auxquels nous ne sommes guère habitués.....

Etant donné le grand nombre d'animaux nécessité par notre étude, nous avons examiné, au cours de nos recherches, le laps de temps au bout duquel un animal pouvait servir à un nouvel essai. Nous n'avons pas multiplié les expériences étant donné la durée qu'elles demandent mais nous pouvons apporter trois résultats : Il semble bien que l'administration d'une forte dose d'extrait hépatique réalise une véritable "inondation" du système hématopoïétique par le principe antipernicieux. L'animal demeure quelque temps insensible à une nouvelle excitation. Au bout de 1 mois, les nouveaux essais sont nuls. Deux mois apportent des réponses chez les uns et rien chez les autres. Par contre, des rats laissés trois mois au repos réagissent comme des animaux neufs. C'est cette date limite que nous nous sommes fixée.

K) Essais réalisés au moyen de notre technique.

Nous ne relaterons pas dans le détail les résultats obtenus avec divers extraits hépatiques et gastriques que nous avons examinés étant donné que l'ensemble de ceux-ci ne sont pas titrés par une autre méthode. Donner une valeur dans ces conditions ne signifie évidemment rien. Nous n'avons comme repère que quelques résultats cliniques se traduisant plus par des mots que par des chiffres, "tel extrait étant de valeur sensiblement égale à tel autre"...C'est pourquoi nous serons sobres de chiffres. Disons seulement, par exemple, qu'un produit que nous avons expérimenté et qui était "aussi actif cliniquement" que celui qui avait servi à nos essais, a donné entre nos mains, pour 1 cm³, un index réticuloocytaire de 18, valeur qui le situe environ où l'on l'espérait.

En dehors de ces essais, nous avons été conduit à analyser des extraits de rate au point de vue activité antipernicieuse. La pratique de l'administration d'extrait splénique contre l'anémie date surtout de la période de guerre où la pénurie de foies d'animaux a incité à rechercher un certain nombre de succédanés. Nous avons toujours pensé que cette substitution était irrationnelle, ce qui s'est d'ailleurs vérifié cliniquement. Nous avons ajouté à ces données un certain nombre d'essais que nous ne relaterons pas ici malgré leur netteté, afin de ne pas surcharger de nouveaux tableaux un exposé déjà long. Ce tra-

CHAPITRE XII

CONCLUSIONS GENERALES ET HYPOTHESES DE TRAVAIL FUTUR

Nous pensons qu'il est inutile de souligner, après ce que nous venons d'écrire, la complexité du problème que nous avons abordé. Où en sommes-nous actuellement ? Telle est la question.

Tout semble dominé en 1947 par le fait de savoir si l'acide folique est ou n'est pas le principe antipernicieux. Il semble bien malheureusement qu'il faille répondre par la négative. Les arguments ne manquent pas.

Il nous faut commencer par remarquer que sa constitution chimique ne cadre guère avec celle des produits les plus purifiés (isolés du foie par KARRER), produits qui agissent à des taux qui sont souvent inférieurs à ceux de l'acide folique. Ou bien, existe-t-il plusieurs principes antipernicieux ?

En second lieu, les essais de traitement de l'anémie de Biermer ont permis de mettre en évidence le fait, que l'acide folique était incapable de rétablir le chiffre de globulie à la normale; on ne dépasse guère 3.500.000. Or, les extraits hépatiques réussissent là où la chimiothérapie échoue. L'acide folique ne représente donc pas toute l'activité antipernicieuse du foie.

Nous rappellerons de plus que les taux d'acide folique nécessaires sont considérablement plus élevés que ceux qui peuvent être retrouvés dans les extraits hépatiques actifs. Il est toujours possible de parler de forme combinée...mais, STOKSTAD & JUKES (154) viennent d'apporter très récemment une donnée aussi importante que décevante : après le traitement enzymatique classique ("vitamin B₁₂ conjugase"), l'effet Lactobacillus casei d'extraits de foie purifiés actifs dans l'anémie n'augmente nullement.....

Enfin, les extraits opothérapiques (hépatiques ou gastriques) antipernicieux exigent, quand ils sont administrés "per os", des quantités beaucoup plus fortes que par voie parentérale, tandis que l'acide folique montre la même activité dans les deux cas.

D'ailleurs, le fait même que les carences foliques expérimentales n'aient pas abouti à ce qu'on espérait prouve que cette vitamine n'est pas le principe antipernicieux lui-même.

On penserait plus volontiers que l'acide folique est le

facteur extrinsèque. Dans ce cas, toutes les anémies expérimentales seraient des anémies par carence de "principe extrinsèque" et curables par ce facteur, tandis que l'anémie de Biermer exigerait en plus pour sa guérison le facteur intrinsèque. Les anémies "par nutrition" ne doivent donc jamais atteindre le stade "pernicieux".

La cause de l'acide pantothénique semble à peu près entendue mais il subsiste toujours le singulier problème d'un produit susceptible de provoquer des crises réticulocytaires importantes et qui semble sans grand rapport avec l'hématopoïèse. L'acide folique, lui aussi, donne des crises réticulocytaires. On peut donc se demander si l'appréciation de l'activité antipernicieuse des extraits hépatiques par la crise réticulocytaire ne repose pas sur une erreur. Cependant des arguments plaident en sa faveur et nous les avons indiqués. Pour les réfuter, il faudrait admettre l'existence dans les extraits hépatiques d'un principe responsable de la crise réticulocytaire et un autre typiquement antipernicieux car l'acide folique et l'acide pantothénique ne semblent pas exister à l'état libre dans les extraits hépatiques. Si cette dualité était une réalité, encore faudrait-il reconnaître, après les preuves du parallélisme de l'activité clinique et de l'activité "réticulocytogénique", que les deux principes ont des propriétés physiques et chimiques tellement voisines qu'ils coexistent dans les extraits purifiés. Doser l'un reviendrait à doser l'autre... mais, tout ceci n'est qu'une hypothèse.

D'ailleurs, le verdict de non activité de l'acide pantothénique n'apparaît pas encore comme définitif. Nous avons vu que la résorption et l'utilisation de cette vitamine étaient conditionnées par la présence d'acide folique. Rappelons avec d'autres auteurs (10) les liens intimes qui unissent les deux principes. Les essais que nous avons faits sur l'homme avec les deux produits associés nous ont montré des actions intéressantes, en particulier des réussites (partielles), là où avaient échoué les extraits hépatiques. Nous pensons qu'il est nécessaire d'accomplir de nouveaux travaux sur l'acide pantothénique.

Nous avons dit au début de ce travail qu'après plusieurs années d'effort la question du déterminisme de la maturation des hématies restait sans réponse parfaite. Nous avons conscience d'avoir apporté une contribution, restreinte étant donné nos possibilités matérielles, mais qui n'est peut-être pas exempte d'intérêt. Nous pensons avoir réussi un degré de rétrogradation particulier de maturation au moyen de carences. Mais, peut-on espérer mieux ? Oui, certes et voici peut-être comment.

Nous pensons que la question du temps de survie intervient pour une grande part. Nous avons été amené à supprimer les protides de l'alimentation de nos rats. C'est un geste brutal et qui manque par trop de souplesse. Afin de supprimer quelques aminoacides importants, nous faisons le vide complet. Il serait beaucoup plus élégant

de sérier le problème et de mettre sur pied une série de régimes (exempts d'acide folique et pantothénique) privés d'un certain nombre d'acides aminés. Cette étude permettrait de fixer ceux qui rentrent dans l'hématopoïèse. En conservant les autres, il serait peut-être possible de prolonger la vie des animaux et de laisser la moëlle osseuse s'adapter lentement à ses nouvelles conditions de vie. Il va sans dire que cette expérimentation serait longue et coûteuse.

La deuxième voie d'abord consiste à supprimer au cours des régimes déjà appropriés, l'action du facteur intrinsèque. Ce n'est pas une chose facile. En dehors des trioxyméthylène qui pouvait être tenté, nous pensons, à la lumière des travaux qui assimilent ce facteur à l'aminopolypeptidase gastrique - (du moins chez le porc), d'essayer d'annihiler l'action de cet enzyme en créant artificiellement un pH du milieu tel que son action soit fortement inhibée. Nous pensons à des régimes comportant une importante proportion, soit de carbonate de calcium, soit de bicarbonate de sodium créant une réaction neutre ou alcaline de façon constante. Cette nouvelle complication se traduira certainement par une diminution de la survie des animaux. Aussi conviendrait-il de ne l'étudier qu'après les acides aminés dont nous venons de parler.

La deuxième voie d'étude dans le domaine de la suppression du facteur intrinsèque est chirurgicale et non biochimique. Nous proposons pour les chercheurs cette idée : étant donné la possibilité de la présence d'ilôts de glandes de Brünner loin dans l'intestin grêle, ne serait-il pas possible d'aboucher largement la grande courbure gastrique avec le colon transverse, réalisant ainsi une anastomose supprimant l'activité gastrique et intestinale ? Cette gastro-transversostomie doit être certainement mal tolérée car on peut se demander ce que devient le pancréas... Il faut de plus chez les animaux (plus volumineux que le rat, tels le lapin ou le chien), réaliser une carence du type de la nôtre. C'est là un travail qui demande certainement plus d'une année et des moyens matériels importants. Telles sont les voies que nous proposons pour les essais futurs de réalisation d'une anémie pernicieuse.

Dans le domaine du titrage du facteur antipernicieux, par la crise réticulocytaire, les travaux de DUSTIN (+) relatifs à l'action des poisons caryoclasiques sur l'hématopoïèse mériteraient une application ? Cet auteur a montré que la colchicine diminuait le taux des réticulocytes chez le lapin. Il serait intéressant de reprendre une étude des crises réticulocytaires chez des rats amenés peut-être expérimentalement à un taux de réticulocytes bas et fixe.....

(+) D'après Bulletin du C.N.R.S. Septembre 1946, VII - 11949.

Le problème de la maturation des hématies reste, avons nous dit, encore irrésolu. Sa difficulté doit être pour les chercheurs plus une cause d'opiniâtreté que d'abandon. Travaillons le de notre mieux, même s'il doit ne nous apporter que des déceptions. Chaque expérimentation infructueuse est une pierre de l'édifice dont la construction nous réserve peut-être encore bien des surprises.

-?-?-?-?-?-?-?-

INDICATIONS BIBLIOGRAPHIQUES

- 1 - AGREN (G) et WALDENSTOM (J).
The intrinsic factor activity of highly purified preparations
of aminopolypeptidase.

Acta Med. Scand. - 1944, 119, 111, p. 167-179.
- 2 - ALBAHARY (C) -
L'hématologie du saturnisme.

Concours médical - 1943, p. 887.
- 3 - ANGIER (RB), BOOTHE (J.H.), HUTCHINGS (B.L.), MOWAT (J.H.)
SELB (J), STOKSTAD (E.R.R.), SUBBAROW (Y), WALLER (C.W.),
COSULICH (O.B.), FAHRENBACH (M.J.), HULTQUIST (M.E.), KUH (E),
WORTHEY (E.H.), SEGGER (D.R.), SICKELS (J.P.), et SMITH (J.M.)
Jr.

Synthesis of compound identical with the Lactobacillus casei
factor isolated from liver.

Science - 1945, 102, p. 227 - 8
- 4 - ARTHUS (A.), LOURAU (L.) et SILVESTRE DE SACY (G.).

Techniques de la préparation d'animaux destinés à l'étude des
produits hématopoïétiques.

C.R. Soc. Biol. - 1934, 67, p. 861 - 3.
- 5 - ARTHUS (A.), LOURAU (L.) et SILVESTRE DE SACY (G.)

La méthode de Whipple dans les anémies expérimentales :
l'anémie saturnine.

C.R. Soc. Biol. - 1935, 68, p. 583-4.
- 6 - ARYA LAYB, dit LEON PEREL.

Contribution expérimentale à l'étude du saturnisme.

Thèse Doc. méd. Paris 1939.
- 7 - ASCHKENAZY (A).

Etude sur l'anémie expérimentale par inanition protéique
chez le rat.

Le Sang - 1946, 17, n° 1, p. 34 - 61.

- 8 - ASKEY (J.M.)

The dietary factor in the etiology of pernicious anemia.

Anno. Int. Méd.- 1944, 21, n° 3, p. 402-11.

- 9 - AYLWARD (F.X.), GRIEVE (W.S.M.), MAINWARING (B.R.S.), et WILKINSON (J.F.).

The hemopoietic activity of mammalian livers.

J. Physiol.- 1941, 100, n° 1, p. 94 - 103.

- 10 - BENARD (H.), RAMBERT (P.) et GAJDOS (A.).

L'acide folique - Son application thérapeutique.

Pr. Méd.- 1946, 64, p. 886-8.

- 11 - BENSATH (A) et VARGAS (S).

Die Bedeutung der Sternalpunktion bei der Differentialdiagnos der Bleivergiftung.

Deutsch. Med. Wschr. - 1940, LXVI, 43, p. 1194 - 5.

- 12 - BERNARD (J.A.S.)

Polyglobulies et leucémies provoquées par injection intramédullaire de goudron.

Thèse Doct. Méd. PARIS 1936.

- 13 - BERARD (P.)

La crise réticuloocytaire. Son intérêt dans le pronostic des anémies pernicieuses et dans le dosage de l'activité des extraits hépatiques.

Thèse Doct. Méd. Lyon 1946.

- 14 - BERG (G) et SCHILKEN (J.).

Über den Zusammenhang zwischen chronischen Magen und Duodenalstörungen und Bleivergiftung.

Arch. Gewerbepath. Gewerbehyg.- 1942, 11, p. 405-19.

- 15 - BERTRAND (G) et BENZON (B).

d'après RANDOIN (L.) et SIMONNET (H.) - n° 132.

- 16 - BETHELL (F.H.), STURGIS (C.S.), RUNDLES (R.W.) et MEYERS (M.C.).
Blood.

Arch. Int. Méd.- 1945, 76, p. 329 - 96.

- 7 - BJÖRKMAN (S.E.)
Koproporphyrinurie und Hämoglobinstoffwechsel bei experimen-
teller Bleivergiftung.
Act. Med. Scand.- 1941, 108, n° 6, p. 568-79. .
- 8 - BLACK (S.), MAC KIBBIN (J.H.) et ELVEHJEM (C.A.)
Use of sulfaguanidine in nutrition experiments.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 1941, 47 N° 2, p. 308-10.
- 19 - BOHN (C.L.S.), LANDBOE-CHRISTENSEN (E.) et PLUM (C.M.)
On the importance of the duodenal glands of Brttner to the
formation of red blood corpuscles in swine.
Acta Med. Scand.- 1945, 120, n° 1 - 2, p. 32 - 9.
- 20 - BOURRELLIER (J.M.).
Contribution à l'étude du diagnostic médico-légal de l'into-
xication saturnine professionnelle.
Thèse Doct. Méd. Paris. 1946.
- 21 - BRIGGS (G.M.) Jr., LUCKEY (T.D.), ELVEHJEM (C.A.) et HART (E.B.).
Studies of two chemically unidentified watersoluble vitamins
necessary for the chick.
J. Biol. Chem.- 1943, 148, n° 1, p. 163-72.
- 22 - BRIGGS (G.M.) Jr., LUCKEY (T.D.), ELVEHJEM (C.A.) et HART (E.B.).
Further studies of the vitamins B₁₀ and B₁₁ and their rela-
tion to folic acid activity.
J. Biol. Chem.- 1944, 153, n° 1, p. 423-34.
- 23 - BRIGGS (G.M.) Jr., LUCKEY (T.D.), ELVEHJEM (C.A.) et HART (E.B.).
Studies on methods of increasing folic acid activity in
liver fractions and in yeast.
J. Biol. Chem.- 1944, 155, n° 2, p. 687-8.
- 24 - CANNON (M.D.), BOUTWELL (R.K.) et ELVEHJEM (C.A.).
The vitamin content of casein.
Science - 1945, 102, p. 529-30
- 25 - CANNON (M.D.), MANNERING (G.J.) ZEPPLIN (M), ELVEHJEM (C.A.)
et HART (E.B.).
Studies on growth and blood formation in guinea-pigs.
Arc. Biol.- 1945, 7, n° 1, p. 55-68.

- 26 - CARTER (C.W.), MAC FARLANE (R.G.), O'BRIEN (J.R.P.), ROBB-SMITH (A.H.T.) et AMOS (B.).
Anemia of nutritional origin in the rat.
Bioch. J. - 1945, 39, n° 4, p. 339-47.
- 27 - CHEVALLIER (P) FIEHRER (A.) et SAIZOU (Fr.)
Comparaison de la détermination de l'hémoglobine par les méthodes de Gowers et de Dognon.
Le Sang - 1944, 16, p. 223-8.
- 28 - CHEVALLIER (P.), FIEHRER (A.), SAIZOU (Fr.) et CAME (J.C.).
Comparaison de la détermination de l'hémoglobine par la méthode de Gowers et par la méthode de Dognon après filtration ou centrifugation prolongée.
Le Sang - 1944, 16, p. 249 - 51.
- 28 bis CHEYMOL (J).
Médicaments anti-anémiques et anémies expérimentales.
1940 - Masson.
- 29 - COOPERMAN (J.M.), ELVEHJEM (C.A.), MAC CALL (K.B.) et RUEGAMER (W.R.).
"Folic acid" active compounds in the nutrition of the monkeys.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Méd. - 1946, 61, n° 1, p. 92-7.
- 30 - COUTURE (A.).
Intoxication saturnine chez les animaux.
Thèse Doct. Véter. Alfort 1938.
- 31 - COWGILL (G.R.) et SALOMON (K).
The possible toxicity of lead alloys.
I. Experiments on the rats with solder.
J. Ind. Hyg. Toxicol. - 1943, 25, p. 81-91.
- 32 - CRANDALL (L.A.) Jr., FINNE (C.O.) Jr. et SMITH (P.W.).
Experimental macrocytic hyperchromic anemia.
Am. J. Physiol. - 1941, 133, Proceedings, p. 252.
- 33 - CRANDALL (L.A.) Jr., FINNE (C.O.) Jr. et SMITH (P.W.).
Experimental antipernicious anemia factor deficiency in dogs.
Science - 1941, 93, p. 549-50.

- 34 - DAFT (F.S.), KORNBERG (A.), ASHBURN (L.L.) et SEBRELL (W.H.).
Granulocytopenia in rats given thiourea and thyroxin. The
therapeutic effect of Lactobacillus casei factor.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Méd.- 1946, 61, n° 2, p. 154-8.
- 35 - DAFT (F.S.), KORNBERG (A.), ASHBURN (L.L.), SEBRELL (W.H.) et
BAKERMAN (M.).
Anemia and granulocytopenia in rats fed a diet low in panto-
thenic acid.
U.S. Publ. Health Repts.- 1945, 60, p. 1201-5.
- 36 - DAFT (F.S.) et SEBRELL (W.H.).
Lactobacillus casei factor deficiency - In Vitamins and
hormones.
New-York - Academic Press - 1945, n° 3.
- 37 - DAFT (F.S.) et SEBRELL (W.H.).
The successful treatment of granulocytopenia and Leukopenia
in rats with crystalline folic acid.
U.S. Publ. Health Repts.- 1943, 58, p. 1542-5.
- 38 - DANIEL (L.J.), SCOTT (M.L.), NORRIS (L.C.) et HEUSER (G.F.)
Studies on the formation of folic acid by incubating Lacto-
bacillus casei factor and pyracin with chick liver.
J. Biol. Chem.- 1945, 160, p. 265-71.
- 39 - DAY (P.L.), LANGSTON (W.C.) et DARLY (W.J.).
Failure of nicotinic acid to prevent nutritional cytopenia
in the monkey.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.- 1938, 38, p. 860-3.
- 40 - DAY (P.L.), LANGSTON (W.C.), DARLY (W.J.), WAHLIN (J.G.) et
MIMS (V.).
Nutritional cytopenia in monkeys receiving the Goldberger
diet.
J. Exptl. Med.- 1940, 72, n° 4, p. 463-77.
- 41 - DAY (P.L.), LANGSTON (W.C.) et SHUKERS (C.F.).
Leucopenia and anemia in the monkeys resulting from dietary
deficiency.
J. Biol. Chem. - 1936, 114, XXV.

- 42 - DAY (P.L.), LANGSTON (W.C.) et SHUKERS (C.F.).
Leucopenia and anemia in the monkey resulting from vitamin deficiency.
J. Nutr.- 1935, 9, p. 637-44.
- 43 - DAY (P.L.), MIMS (V.) et TOTTER (J.R.).
The relationship between vitamin M and the Lactobacillus casei factor.
J. Biol. Chem.- 1945, 161, n° 1, p. 45-52.
- 44 - DAY (P.L.), MIMS (V.), TOTTER (J.R.), STOKSTAD (E.L.R.), HUTCHINGS (B.L.) et SLOANE (N.M.).
The successful treatment of vitamin M deficiency in the monkey with highly purified Lactobacillus casei factor.
J. Biol. Chem.- 1945, 157, n° 1, p. 423-4.
- 45 - DICK (G.F.) et STEVENS (D.S.).
A photoelectric hemoglobinometer.
J.A.M.A. - 1940, 114, p. 1055-6.
- 46 - DOAN (C.A.).
Folic acid (synthetic Lactobacillus casei factor), an essential panhemopoietic stimulus. Experimental and clinical studies.
Am. J. Med. Sci. - 1946, 212, p. 257-74.
- 47 - DOGNON (A.).
Methode optique simple de dosage de l'hémoglobine sans étalon coloré.
C.R. Soc. Biol.- 1938, 3, p. 469-70.
- 48 - DUSTIN (P.).
Recherches histochimiques sur les hématies à ponctuation basophile.
Acta Biol. Belg. - 1942, 2, p. 225-8.
- 49 - EDERLE (W.), KRIECH (H.) et GANNSELEN (M.).
Behandlung der Anaemia Perniciosa mit injizierbarem Magenextrakt.
Klin. Wschr.- 1931, 10, not. p. 313.

- 50 - ELVEHJEM (C.A.), KOEHN (C.J.) Jr. et OLESON (J.J.).
A new essential dietary factor.

J. Biol. Chem.- 1936, 115, p. 707-19.
- 51 - ENDICOTT (K.M.), DAFT (F.S.) et OTT (M.).
The bonemarrow in "folic acid" deficiency and its response to
a crystalline Lactobacillus casei factor ("folic acid").

Arch. Path. - 1945, 40, n° 5, p. 364-72.
- 52 - ENDICOTT (K.M.) et OTT (M.).
The normal myelogram in albino rats.

Anat. Rec.- 1945, 92, n° 1, p. 61-9.
- 53 - ETEVE (L.).
Un facteur vitaminique antianémique : l'acide folique
(Facteur L. casei).

Pr. Med. - 1946, 50, p. 682-4.
- 54 - FLEURY (P.) et MARQUE (J.).
Le dosage du fer sanguin par molybdomanganimétrie. Nouvelle
technique.

Bull. Soc. Chim. Biol. - 1929, 9, p. 1123-9.
- 54 bis FONTES (G.) et THIVOLLE (L.).
of : CHEYMOL.
- 55 - FRAZER (A.C.).
Differentiation in the absorption of olive oil and oleic
acid in the rat.

J. Physiol. - 1943, 102, p. 306-12.
- 56 - FROMMEYER (W.B.) Jr, SPIES (T.D.), VILTER (C.F.) et ENGLISH (A.).
Further observations of the antianemia properties of 5 methy-
luracile.

J. Lab. Clin. Méd.- 1946, 31, N° 6, p. 643-9.
- 56 bis GAJDOS (A.) et ERKELEYAN (A.).
L'action antianémique de la méthionine chez le rat.

C.R. Soc. Biol.- 1945, 23-24, p. 1045.
- 57 - GEIGER (A.J.), GOODMAN (L.S.) et CLAIRBORN (L.N.).
Effects of gastro-intestinal resection in swine on the an-

tianemia potency of the liver.

Yale J. Biol. Med.- 1940, 13, n° 2, p. 259-78.

- 58 - GLYNN (L.E.), HIMSWORTH (H.) et NEUBERGER (A.).
Pathological states due to a deficiency of the sulfurcontaining aminoacids.
Brit. J. Exptl. Path.- 1945, 26, n° 5, p. 326-37.
- 59 - GROSS (P.), AXELROD (A.E.) et BOSSE (M.D.)
Lesion in rats fed sulfaguanidine in purified diets. The effects of liver or "folic acid" -concentrate-biotin therapies.
Am. J. Med. Sci. - 1944, 208, p. 642-60.
- 60 - GUILLOT (M.) et RENAULT (H.).
Détermination de l'hémoglobine par la méthode de Dognon.
Le Sang - 1944, 16, p. 243-6.
- 61 - GUILLOT (M.) et RENAULT (H.).
Importance de la nature de la source de lumière utilisée pour la détermination de l'hémoglobine par la méthode de Dognon.
Le Sang - 1944, 16, p. 255-8.
- 62 - HENNING (W.) et KEILHACK (H.).
Die Ergebnisse der Sternalpunktion - Bleivergiftung. p. 457.
Ergeb. Inn. Med. Kinderheilk.- 1939, 56, p. 372-460.
- 63 - HESSE (E.).
Die Entgiftung des Bleis.
Klin. Wschr. - 1940, 19, p. 104-6.
- 64 - HOGAN (A.G.) et PARROT (E.M.J.).
Anemia in chicks due to vitamin deficiency.
J. Biol. Chem - 1939, 128, p. XLVI.
- 65 - HOGAN (A.G.) et PARROT (E.M.).
Anemia in chicks caused by a vitamin deficiency.
J. Biol. Chem. 1940, 132, n° 2, p. 507-17.
- 66 - HOGAN (A.G.) et RICHTIE (W.S.).

An anemia caused by deaminized casein.

J. Biol. Chem. - 1934, 107, p. 178-89.

- 67 - HORWITT (M.K.) et COWGILL (G.R.).
Action de l'ingestion de plomb sur l'organisme. Etude sur le rat.
Extrait de : Arch. Mal. Profess.- 1938, 1, n° 5, p. 433.
- 68 - HUTCHINGS (B.L.), BOHONOS (N.), HEGSTED (D.M.), ELVEHJEM (C.A.) et PETERSON (W.H.).
J. Biol. Chem.- 1941, 140, n° 2, p. 681. D'après DOAN, n° 46.
- 69 - HUTCHINGS (B.L.), BOHONOS (N.) et PETERSON (W.H.).
Growth factors for bacteria - XIII. Purification and properties of an eluate factor required by certain lactic acid bacteria.
J. Biol. Chem. - 1941, 141, n° 2, p. 521-8.
- 70 - HUTCHINGS (B.L.), STOKSTAD (E.M.R.), BOHONOS (N.) et SLOBODKIN (N.H.).
Isolation of a new Lactobacillus casei factor.
Science - 1944, 99, p. 371-2.
- 71 - IVES (M.), POLLARD (A.E.), ELVEHJEM (C.A.) et STRONG (F.M.).
The nutritive value of canned foods - XVII. Pyridoxin, biotin and "folic acid".
J. Nutr.- 1946, 31, n° 3, p. 347-53.
- 72 - JACOBSEN (C.E.) et PLUM (C.M.).
The role of tyrosin in pernicious anemia.
Acta Med. Scand.- 1945, 20, n° 1-2, p. 81-92.
- 73 - JACOBSON (N) et WILLIAMS (S.M.).
The use of the splenectomized rabbit for the assay of liver extracts : with observations of the chemical nature of the antipernicious anemia factor.
J. Path. Bact. - 1945, 57, n° 4, p. 428-33.
- 74 - JAPA (J.).
A study of hemopoiesis in pernicious anemia bone marrow.
British J. Exptl. Pathol. - 1945, 26, n° 2, p. 111-20.

- 75 - JENSEN, Mme (A.M.C. née HUDLET).
Essai biologique des extraits de foie injectables sur le lapin en état d'anémie saturnine.
Thèse Doct. Med. Bordeaux, 1944-5.
- 76 - JUKES (T.H.).
Distribution of pantothenic acid in certain products of natural origin.
J. Nutr.- 1941, 21, p. 193-200.
- 77 - KARRER (P.), FREI (P.) et FRITZSCHE (H.).
Über einen Bestandteil von gegen perniziöse Anämie hochaktiven Leberpräparaten.
Helv. Chem. Acta - 1937, 20, p. 622.
- 78 - KARRER (P.), FREI (P.) et RINGIER (B.H.).
Bestandteile von gegen perniziöse Anämie hoch aktiven Leberpräparaten.
Helv. Chem. Acta - 1938n 21, p. 314-15.
- 79 - KARRER (P.) et KELLER (R.).
Über einige Hydrolysen produkte hochaktiver Präparate des Antiperniciosa - Faktors.
Helv. Chem. Acta - 1943, 26, p. 55-6.
- 80 - KEHOE (R.A.), CHOLAK (J.), HUBBARD (D.M.), BAMBACH (K.) et MAC NARY (R.R.).
Experimental studies on lead absorption and excretion and their relation to the diagnosis and treatment of lead poisoning.
J. Ind. Hyg. Toxicol.- 1943, 25, p. 71-80.
- 81 - KENCH (J.E.), GILLAM (A.E.) et LANE (R.E.).
Hemopoiesis in lead poisoning.
Bioch. J. - 1942, 36, p. 384-8.
- 82 - KLIMA (R.) et SEYFRIED (H.).
Zur Pathologie und Therapie der Bleianämie.
Pol. Hemat. - 1937, 57, p. 283-95.

- 83 - KOO (V.).
Recherches sur différents tests permettant d'apprécier l'activité des produits antianémiques.
Thèse Doct. Med. Paris 1945.
- 84 - KORNBERG (A.), DAFT (F.S.) et SEBRELL (W.H.).
Granulocytopenia and anemia in riboflavindeficient rats and treatment with L.c. factor ("folic acid") and riboflavin.
Arch. Bioch.- 1945, 8, n° 3, p. 431-7.
- 85 - KORNBERG (A.), DAFT (F.S.) et SEBRELL (W.H.).
Granulocytopenia and anemia in rats fed a low casein content.
Science - 1946, 103, p. 646-8.
- 86 - KORNBERG (A.), TABOR (H.) et SEBRELL (W.H.).
The effect of L. casei factor ("folic acid") on blood regeneration following hemorrhage in rats.
Am. J. Physiol. - 1944, 112, p. 604-14
- 87 - LANGE (R.D.), RAMSEY (R.H.) et MOORE (C.V.).
The urinary excretion of antipernicious anemia factor.
J. Lab. Clin. Med.- 1945, 30, n° 12, p. 1048-55.
- 88 - LANGSTON (W.C.), DARLY (W.J.), SHUKERS (C.F.) et DAY (P.L.).
Nutritional cytopenia (Vitamin M deficiency) in the monkey.
J. Exptl. Med. - 1938, 68, p. 923-40.
- 89 - LAUR (C.M.).
Les réticulocytes et les réticulocytoses.
Thèse Doct. Med. Paris 1932.
- 90 - LEM (F.).
Contribution à l'étude de la toxicologie du plomb.
Thèse Doct. Pharm. Paris 1936.
- 91 - LESURE (J.).
Contribution à l'étude des stigmates hématologiques précoces du saturnisme.
Thèse Doct. Med. Paris. 1940.

- 92 - LOURAU (M).
L'anémie saturnine du lapin, test du facteur antipernicieux.
Valeur de la méthode. Nouveau procédé. Contrôle.
Bull. Soc. Chim. Biol. - 1943, 4-6, p. 133-7.
- 93 - LOURAU (M) et PROVOOST (M.).
Recherches sur la nature du facteur antianémique dans l'anémie saturnine du lapin.
Bull. Soc. Chim. Biol. - 1943, 4-6, p. 138-144.
- 94 - LOURAU (M).
Standardisation de l'activité antipernicieuse des extraits hépatiques par une méthode biologique.
Bull. Soc. Chim. Biol. - 1943, 10-12, p. 393-401.
- 95 - LOURAU (M).
Sur un caractère essentiel de l'anémie saturnine.
Le Sang - 1946, 4, p. 242-6.
- 96 - LOURAU (M.).
Titrage du facteur antipernicieux par une méthode biologique.
Le Sang - 1946, 6, p. 363-75.
- 97 - LOURAU (M.), S. de SACY (G.) et ARTHUS (A.).
Stabilité de l'anémie produite dans le saturnisme expérimental
C.R. Soc. Biol. - 1938, 2, p. 512-4.
- 98 - LOURAU (M.) S. de SACY (G.) et ARTHUS (A.).
Régénérations sanguines produites dans le saturnisme expérimental par un facteur hépatique hydrosoluble. Généralité de la réaction.
C.R. Soc. Biol. - 1939, 1, p. 642-4.
- 99 - LUCKEY (T.D.), MOORE (P.R.), ELVEHJEM (C.A.) et HART (E.B.).
Effect of diet on the response of chicks to folic acid.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. - 1946, 62, n° 2, p. 307-12.
- 100 - MAC CALL (K.B.), WAISMAN (H.A.), ELVEHJEM (C.A.) et JONES (E.S.).
A study of pyridoxine and pantothenic acid deficiencies in the monkey (*macaca mulatta*).
J. Nutr. - 1946, 31, n° 6, p. 685-97.

- 101 - MALLORY (M.E.), MIMS (V.), TOTTER (J.R.) et DAY (P.L.).
Effect of a concentrate of potential *Streptococcus lactis* R.-
stimulating factor on growth and white bloodcell counts of
succinylsulfathiazole rats.

J. Biol. Chem. - 1944, 156, p. 317-21.
- 102 - MARSON (G.L.) et IVY (H.C.).
Gastrectomy and subsequent studies in the hog.

Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. - 1934, 31, p. 554-6.
- 103 - MAUN (M.E.), CAHILL (W.M.) et DAVIS (R.M.).
Morphologic studies of rats deprived of essential aminoacids.
II. Leucine.

Arch. Path. - 1945, 40, n° 3, p. 173-8.
- 104 - MAUN (M.E.), CAHILL (W.M.) et DAVIS (R.M.).
Morphologic studies of rats deprived of essential aminoacids.
III. Histidine.

Arch. Path. - 1946, 41, n° 1, p. 25-31.
- 105 - MEYER (C.E.), BURTON (I.F.) et STURGIS (C.C.).
Pantothenic acid absorption in pernicious anemia.

Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. - 1942, 49, n° 3, p. 363-5.
- 106 - MILLS (R.C.), BRIGGS (C.H.) Jr., ELVEHJEM (C.A.) et HART (E.B.).
Lactobacillus casei Factor in the nutrition of the chick.

Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. - 1942, 49, p. 186-9.
- 107 - MITCHELL (M.K.), SNELL (E.E.) et WILLIAMS (R.J.).
The concentration of "folic acid".

J. Am. Chem. Soc. - 1941, 63, n° 8, p. 2284.
- 108 - NETTER (R.).
Hypoglobulie experimentale par intoxication saturnine ménagée.

C.R. Soc. Biol. - 1934, 115, 1, p. 1091-2.
- 109 - NIELSEN (E) et ELVEHJEM (C.A.).
The growthpromoting effect of folic acid and biotin in rats
fed succinylsulfathiazole.

J. Biol. Chem. - 1942, 145, n° 2, p. 713-4.

- 110 - OLIVA (G.) et PITZURRA (M.).
Reticulocyten fördernde und antiperniziöse Wirkung des komplexen "Perniziöser Magensaft - Fleisch, in Krankheitsfällen von perniziöser Anämie.
Klin. Wschr. - 1942, 21, p. 733-4.
- 111 - OLMER (J.) et SARLES (H.).
Anémies graves hépatorésistantes et levurocurables.
Pr. Med. - 1946, 32, p. 461.
- 112 - ORTEN (A.U.) et ORTEN (J.M.).
A study of hemoglobin formation following the administration of certain aminoacids to rats fed a diet low in protein.
J. Nutr. - 1945, 30, n° 2, p. 137-42.
- 113 - ORTEN (J.M.) et ORTEN (A.U.).
The comparative value of certain dietary protein for hemopoiesis in the rat.
J. Nutr. - 1946, 31, n° 6, p. 765-75.
- 114 - OSBORNE (T.B.), WAKEMAN (A.J.) et FERRY (E.L.).
Preparation of protein free from water soluble vitamins.
J. Biol. Chem. - 1919, 39, p. 35-46.
- 115 - OVERBECK (G.A.), GAILLARD (P.J.) et de JONGH (S.E.).
Ein qualitatives und quantitatives Testverfahren für die Wirkung antianämischer Leberextrakte in vitro.
Schweiz. Med. Wschr. - 1938, 68, p. 711-13.
- 116 - PACE (N.) et FISCHER (R.S.).
J. Pharmacol Exptl Ther. - 1942, 74, p. 256; d'après YOUNG et BETT, n° 179.
- 117 - PETRI (S.), BANG (O.), KIAER (N) et NIELSEN (A.K.).
Experimental studies on the significance of the various principle content of the liver (in Swine).
Acta Med. Scand. - 1944, 19, n° 1-2, p. 103-11.
- 118 - PETRI (S.) et JENSENIUS (H.).
Experimental studies on production of pernicious anemia by operation on the digestive tract. Survey of the results of total gastrectomy and resections of the stomach.

Acta. Med. Scand. - 1941, 106, n° 3, p. 274-92.

119 - PFALTZ (H.).

Biologische Prüfung der Pantothenensäure.

Helv. Chem. Acta - 1940, 23, p. 1279-83.

Sous chapitre de : "GRÜSSNER (A), GATZI-FICHTER (M) et REICHSTEIN (T).

Crystallisierte Chininsalze der (+) und (-) Pantothenensäure und die biologische Wirksamkeit des d (+) - Pantothenensäure - Äthylesters.

120 - PFIFFNER (J.J.), BINKLEY (S.B.), BLOOM (E.S.), BROWN (R.A.), BIRD (O.D.), EMMET (A.D.), HOGAN (A.G.) et O'DELL (B.L.).

Isolation of the antianemic factor (Vitamin B₆) in crystalline form from liver.

Science - 1943, 97, p. 404-5

121 - PFIFFNER (J.J.), CALKINS (D.G.), O'DELL (B.L.), BLOOM (R.A.), BROWN (R.A.), CAMPBELL (C.J.) et BIRD (O.D.).

Isolation of an antianemic factor (Vitamin B₆ conjugate) in crystalline form from yeast.

Science - 1945, 102, p. 228-30.

122 - PHILLIPS (P.H.) et ENGEL (R.W.).

J. Nutr. - 1939, 18, p. 227.
d'après VELLUZ, n° 162.

123 - PIECHL (N).

Bei welcher Menge entnommenen Blutes setzt das Knochenmark mit gesteigerter Blutneubildung ein ?

Dtsch. Med. Wschr. - 1941, 67, p. 950-2.

124 - PIETTE (M.).

Etude sur l'anémie pernicieuse d'Addison-Biermer. I. Anémie d'Addison-Biermer et acide pantothénique.

Bull. Soc. Chim. Biol. - 1946, 4-6, p. 322-4.

125 - PIETTE (M.).

Etude sur l'anémie pernicieuse d'Addison-Biermer. II. L'acide pantothénique et la crise réticulocytaire chez l'animal normal.

Bull. Soc. Chim. Biol. - 1946 - 4-6 p. 324-7.

- 126 - PIETTE (M.)
Etude sur l'anémie pernicieuse d'Addison-Biermer. III. Les anémies par carence pantothénique chez le rat.
Bull. Soc. Chim. Biol. - 1947, 4-6, p. 525-8.
- 127 - PIETTE (M.).
Etude sur l'anémie pernicieuse d'Addison-Biermer. IV.-
Les anémies par carence mixte (protides et acide pantothénique) chez le rat.
Bull. Soc. Chim. Biol. - 1947, 4-6, p. 529-31.
- 128 - PIETTE (M.).
Sur un dosage photométrique rapide de l'hémoglobine.
C.R. Soc. Biol. - 1945, 13-14, p. 653-6.
- 129 - PONDER (E.).
Red cell counts, percentage volume and the opacity of suspensions.
Am. J. Physiol. - 1941, 134, n° 4, p. 739-45.
- 130 - RAMBERT (P.A.).
Le principe antipernicieux de l'estomac. Sa recherche dans le suc gastrique par le test du rat blanc.
Thèse Doct. Méd. Paris, 1937.
- 131 - RANDOIN (L.).
Constitution de deux régimes définis pour l'étude du scorbut et de la polynévrite ovariale.
Bull. Soc. Hyg. Alim. - 1923 - 11, p. 453-67.
- 132 - RANDOIN (L) et SIMONNET (H.).
Les données et les inconnues du problème alimentaire. II. La question des vitamines.
Les Presses Universitaires de France.
- 133 - RANSOME (B.) et ELVEHJEM (C.A.).
The value of biotin, folic acid concentrates and liver extracts in the diet of rats fed succinylsulfathiazole.
J. Biol. Chem. - 1943, 151, n° 1, p. 109 - 15.

- 134 - RAOUL (Y) et MARNAY (Ch.).
Recherches biochimiques sur les avitaminoses du groupe de la pellagre. X. L'excrétion cutanée de porphyrine chez les rat est-elle un signe de carence pantothénique ?
Bull. Soc. Chim. Biol.- 1945, 10-12, p. 502-8.
- 135 - SANDERS (L.W.).
Measurement of industrial lead exposure by determination of stippling of the erythrocytes.
J. Ind. Hyg. Toxicol.- 1943, 25, p. 38-46.
- 136 - SASLAW (S.), WILSON (W.E.), DOAN (C.A.) et SCHWAB (J.L.).
The vitamin M factor.
Science - 1943, 97, p. 514-5.
- 137 - SASLAW (S.), WILSON (H.E.), DOAN (C.A.), WOOLPERT (A.C.) et SCHWAB (J.L.).
Reaction of monkeys to experimentally induced influenza virus A infection. An analysis of the relative roles of humoral and cellular immunity under conditions of optimal or deficient nutrition.
J. Exptl. Med., in press, d'après DOAN, n° 46.
- 138 - SCHAEFER (A.E.), MAC KIBBIN (J.M.) et ELVEHJEM (C.A.).
Pantothenic acid deficiency studies in dogs.
J. Biol. Chem. - 1942, 143, n° 2, p. 321-30.
- 139 - SCHUMACHER (A.E.), HEUSER (G.F.) et NORRIS (L.C.).
The complex nature of the alcohol precipitate factor required by the chick.
J. Biol. Chem.- 1940, 135, p. 313-20.
- 140 - SCOTT (M.L.), NORRIS (L.C.) et HEUSER (G.F.).
The effect of β -pyracin and the Lactobacillus casei factor upon hemoglobin regeneration following hemorrhages.
Science - 1946, 103, p. 303-4.
- 141 - SCOTT (M.L.), NORRIS (L.C.), HEUSER (G.F.) et BRUCE (W.F.).
Studies on organic factors required for prevention of anemia in chicks.
J. Biol. Chem. - 1945, 158, n° 1, p. 291-8.

- 142 - SEYDERHEIM.
Vitamin und Blut - 1935.
d'après KOO, n° 83.
- 143 - SHAW (J.M.) et PHILIPS (P.H.).
Neuropathologic studies of pantothenic acid, biotin and
folic acid complex deficiencies in the chick.
J. Nutr. 1945, 29, n° 2, p. 107-12.
- 144 - SHULACK (N.R.) et PETERS (M.).
Spinal cord changes in avitaminosis.
Bull. U.S. Army Med. Dept. - 1945, 88, p. 118-20.
- 145 - SILBER (R.H.).
Studies of pantothenic acid deficiencies in dogs.
J. Nutr. - 1944, 27, p. 425-33.
- 146 - SINGER (K.).
Über eine Tierexperimentelle Methode zum Nachweis des Castle-
Prinzips des Magensaftes und deren klinische Bedeutung.
Klin. Wschr. - 1935, 14, p. 200-4.
- 147 - SMITH (S.G.).
Red staining of paws and whiskers as in vitamin B₂ complex
deficient rats after dehydration.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. - 1942, 49, p. 691-3.
- 148 - SNELLE (E.P.) ET PETERSON (W.H.).
Growth factors for bacteria X. Additional factors required
by certain acid bacteria.
J. Bact. - 1940, 39, p. 273-85.
- 149 - SOULIER (J.P.).
Revue générale. II. Anémies pernicieuses et anémies macrocy-
taires voisines, L'acide folique.
Le Sang - 1946, 5, p. 330-44
- 150 - SPERANSKY (J.) et SKIANSKAJA (R.).
Zur Frage vom Wesen der Bleivergiftung Knochenmarkverande-
rungen bei experimenteller Bleivergiftung.
Fol. Hemat. - 1928, 36, n° 3-4, p. 289-315.

- 151 - SPICER (S.S.), DAFT (S.G.), SEBRELL (W.H.), et ASHBURN (L.L.).
Prevention and treatment of agranulocytosis and leukopenia
in rats given sulfanilylguanidine or succinylsulfathiazole
in purified diets.

Publ. Health Repts. - 1942, 57, n° 42, p. 1559-66.
- 152 - SPIES (T.D.).
Effect of folic acid on persons with macrocytic anemia in
relapse.

J.A.M.A. - 1946, 130, n° 8, p. 474-7
- 153 - STOKSTAD (E.L.R.)
Isolation of a nucleotid essential for the growth of Lacto-
bacillus casei.

J. Biol. Chem. - 1941 - 139, n° 1, p. 475-6.
- 154 - STOKSTAD (E.L.R.) et JUKES (T.H.).
Absence of appreciable Lactobacillus casei effect un anti-
pernicious anemia liver extract.

Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. - 1946, 62 n° 2, p. 112-3.
- 155 - STOKSTAD (E.L.R.) et MANNING (P.D.V.).
Evidence of a new growth factor required by chicks.

J. Biol. Chem. - 1938, 125, p. 687-96.
- 156 - STRAUBE (G.).
Bleivergiftung und Magenerkrankung.

Arch. Gewerbepath. Gewerbehyg. - 1940, 10, p. 349-59.
- 157 - SUBBAROW (Y), HASTINGS (A.B.) et ELKIN (M).
Vitamins and hormones - New-York.

Academic Press. 1945, vol. 3, d'après DOAN, n° 46.
- 158 - TAYLOR (G.F.) et CHHUTTANI (P.N.).
Nutritional macrocytic anemia and the animal protein of diet.

British Med. J. - 1945, 1, p. 800-2.
- 159 - TOTTER (J.R.), MIMS (V.) et DAY (P.L.).
Further studies on the relationsh ip between xanthopterin,
folic acid and vitamin M.

Science - 1944, 100, p. 223-5.

- 160 - TOTTER (J.R.), SHUKERS (C.R.), KOLSON (J.), MIMS (V.) et DAY (P.L.).
Studies on the relation between vitamin M, xanthopterin and folic acid.
J. Biol. Chem. - 1944, 152, n° 1, p. 147-55.
- 161 - TOTTERMAN (G.).
Experiments with injections of stomach extracts in pernicious anemia.
Acta. Med. Scand. - 1944, 118, n° 4-5, p. 417-21.
- 162 - VELLUZ (L.).
L'acide pantothénique, vitamine du groupe B.
Bull. Soc. Chim. Biol. - 1945, 1-3, p. 17-39.
- 163 - WAISMAN (H.A.) et ELVEHJEM (C.A.).
The role of biotin and "folic acid" in the nutrition of Rhesus monkey.
J. Nutr. - 1943, 26, n° 4, p. 361-75.
- 164 - WATSON (J.) et CASTLE (W.B.).
Nutritional macrocytic anemia, especially in pregnancy. Response to a substance in liver other than that effective in pernicious anemia.
Am. J. Med. Sci. - 1946, 211, p. 513-30.
- 165 - WATSON (J.) et CASTLE (W.B.).
Nutritional macrocytic anemia : response to a substance other than the antipernicious anemia principle.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. - 1945, 58, p. 84-6.
- 166 - WELCH (A.D.), MATTIS (P.A.) et LATVEN (A.R.).
A toxicological study of succinylsulfathiazole.
J. Pharm. Exptl. Ther. - 1942, 75, n° 3, p. 231-46.
- 167 - WHIPPLE (G.H.) et ROBSCHKEIT-ROBBINS (F.S.).
Aminoacids and hemoglobin production in anemia.
J. Exptl. Med. - 1940, 71, n° 4, p. 569-83.
- 168 - WILKINSON (J.F.) et KLEIN (L.).
The relationship between the antianemic principles in stomach and liver.
Lancet. - 1933, 2, p. 629-33.

- 169 - WILLS (L.).
Treatment of "pernicious anaemia of pregnancy" and "tropical anaemia". With special reference to yeast extract as a curative agent.
British Med. J. - 1931, 1, p. 1059-64.
- 170 - WILLS (L.).
The vitamin B₂ complex.
Proc. Nutr. Soc. - 1946, 4, p. 140-50.
- 171 - WILSON (H.E.), SASLAW (S.S.) et DOAN (C.A.).
The effect of folic acid (L.c. factor) in nutritional hematology of monkeys.
J. Lab. Clin. Med. - 1946, 31, p. 631-42.
- 172 - WINTROBE (M.M.), POLLINS (R.M.) Jr., ALCAYAGA (R.), PAULSON (M.), et HUMPHREYS (S.).
Panthothenic acid deficiencies in Swine, with particular reference to the effects on growth and on the alimentary tract.
Bull. John Hopkins H. - 1943, 73, n° 5, p. 313-42.
- 173 - WRIGHT (L.D.) et SKEGGS (H.R.).
Succinylsulfathiazole in the nutrition of the rat.
Am. J. Med. Sci. - 1946, 212, p. 312-4.
- 174 - WRIGHT (L.D.), SKEGGS (H.R.) et SPRAGUE (K.L.).
The effect of feeding succinylsulfathiazole to rats receiving purified diets high in carbohydrate, protein, fat or protein and fat.
J. Nutr. - 1945, 29, n° 6, p. 431-9.
- 175 - WRIGHT (L.D.), SKEGGS (H.R.), WELCH (A.D.), SPRAGUE (K.L.) et MATTIS (P.A.).
The existence of a microbiologically inactive "folic acid" like material possessing vitamin activity in the rat.
J. Nutr. - 1945, 29, n° 3, p. 289-98.
- 176 - WRIGHT (L.D.) et WELCH (A.D.).
Folic acid, biotin and pantothenic acid deficiency and the liver storage of various vitamins in rats fed succinylsulfathiazole in highly purified diets.
J. Nutr. - 1944, 27, n° 1, p. 55-66.

- 177 - WHRIGHT (L.D.) et WELCH (A.D.).
The role of "folic acid" and biotin in the utilisation of pantothenic acid by the rat.
Science - 1943, 97, p. 426-7.
- 178 - WRIGHT (L.D.) et WELCH (A.D.).
The production of folic acid by rat liver in vitro.
Science - 1943, 98, p. 179-82.
- 179 - YOUNG (C.M.) et BETT (H.D.).
The bone-marrow procedure for the assay of liver extracts for antipernicious anemia activity.
J.Pharmacol. Exptl. Ther.; 1944, 81, n° 3, p. 248-53.
- 180 - ZUCKER (T.E.), BERG (B.N.) et ZUCKER (L.M.).
Nutritional effects on the gastric mucosa of rat. II. Lesions of the fundus and rumen.
J. Nutr.- 1945, 30, p. 319-31.
- 181 - ZUELZER (W.W.) et OGDEN (F.N.).
Folic and therapy in macrocytic anemias in infancy.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. - 1946, 61, n° 2, p. 176-7.
- 182 - REVUE : The antipernicious anemia factor.
British Med. J. - 1942, p. 668-9.

Les conditions actuelles ne nous ont pas permis la consultation des originaux des trois publications italiennes suivantes :

- 183 - CORRADO BETTI.
Rass. Med. Ind. - 1940, 11, p. 584-603.
d'après Chemical Abstracts, 1941, 1541.
- 184 - MAZZA (F.P.), MIGLIARDI (C.) et PENATI (F.).
Arch. Sci. Biol. - 1941, 27, p. 291-326.
d'après Chemical Abstracts, 1946, 5078.
- 185 - MONTEGROSSO (G.).
Medicina Lavoro - 1939, 30, 1, p. 1-8.
d'après Chemical Abstracts, 1940, 1769.

TABLE DES MATIÈRES

— — — — —

	<u>Pages</u>
<u>INTRODUCTION.....</u>	5
<u>CHAPITRE PREMIER</u>	
Le développement de l'hématie chez l'adulte, La lignée érythroblastique définitive.....	9
Introduction :.....	9
Paragraphe 1er - Le Proérythroblaste.....	10
Paragraphe 2 - l'Erythroblaste.....	11
Paragraphe 3 - l'Hématie.....	12
<u>CHAPITRE II - L'hématie embryonnaire :</u>	
Sa reviviscence chez l'adulte - La lignée éry- throblastique primordiale ou mégaloblastique.....	14
Introduction.....	14
Paragraphe 1er - Le mégalo- cyte embryonnaires.....	14
Paragraphe 2 - Les formes embryonnaires des hématies chez l'adulte.....	15
<u>CHAPITRE III - Le problème de la maturation et du développement de l'hématie.....</u>	17
Paragraphe 1er - L'anémie pernicieuse d'Addison- Biermer. Données anatomiques, physiologiques et biochimiques.....	17
Paragraphe 2 - Les hypothèses physiologiques relatives au mécanisme de l' immaturation des hématies....	19
Paragraphe 3 - Etudes expérimentales.....	20
A : Essai de réalisation d' une anémie du type biermerien.....	21
B : Essai d'isolement du principe antipernicieux..	22

	<u>Pages</u>
C : Essai de l'appréciation de l'activité antipernicieuse.....	23
<u>CHAPITRE IV</u> - Plan de travail et techniques utilisées au cours de nos recherches.....	25
Paragraphe 1 - Voies d'abord du problème.....	25
Paragraphe 2 - Choix de l'animal et particulari- tés hématologiques qui s'y rat- tachent.....	25
Paragraphe 3 - Rappel des techniques hématologi- ques classiques utilisées.....	29
Paragraphe 4 - Technique personnelle : microdétermination de l'hémoglo- bine.....	29
<u>CHAPITRE V</u> - Influence du plomb sur l'hématopoïèse.....	35
Paragraphe 1 - Résumé bibliographique.....	35
Paragraphe 2 - Hypothèse de travail	36
Paragraphe 3 - Travail personnel.....	36
A) Protocole expérimental.....	36
B) Résultats.....	37
C) Conclusions.....	45
<u>CHAPITRE VI</u> - L'acide pantothénique et l'hématopoïèse...	50
Paragraphe 1 - Rappel bibliographique.....	50
Paragraphe 2 - Hypothèse de travail.....	51
Paragraphe 3 - Travail personnel.....	52
A) Protocole expérimental.....	52
B) Résultats.....	53
C) Interprétation et conclusions.....	53
Paragraphe 4 - Les carences pantothéniques ex- périmentales et l'hématopoïèse..	54
A) Protocole expérimental.....	55
B) Résultats.....	57
C) Discussion des résultats.....	63
D) Examens cytologiques.....	64
Paragraphe 5 - Conclusions.....	66

	<u>Pages</u>
<u>CHAPITRE VII - Influence des protides alimentaires sur l'hématopoïèse.....</u>	67
Paragraphe 1 - Rappel bibliographique.....	67
Paragraphe 2 - Travail personnel.....	68
Les anémies au "trioxyméthylène	
A) Hypothèse de travail.....	68
B) Protocole expérimental.....	69
C) Résultats.....	69
D) Interprétation des résultats.....	75
<u>CHAPITRE VIII - L'hématopoïèse au cours de carences mixtes protides-acide pantothénique et de carences plus complexes</u>	77
Paragraphe 1 - Carences mixtes protides-acide pantothénique.....	77
A) Protocole expérimental.....	77
B) Résultats.....	78
C) Discussion des résultats.....	81
Paragraphe 2 - Carences complexes.....	84
<u>CHAPITRE IX - L'acide folique et l'hématopoïèse.....</u>	85
Paragraphe 1 - Rappel bibliographique.....	85
Paragraphe 2 - Travail personnel.....	88
A) Les crises réticulocytaires chez le rat normal au moyen de l'acide folique.....	88
B) Les carences foliques complexes.....	90
1) Protocole expérimental.....	90
2) Résultats.....	90
3) Discussion des résultats...	93
<u>CHAPITRE X - Conclusions relatives aux anémies par carences.....</u>	98
<u>CHAPITRE XI - Essais d'appréciation de l'activité anti-pernicieuse.....</u>	100
Paragraphe 1 - Position du problème et données récentes.....	100
Paragraphe 2 - Travail personnel.....	101
A) Rappel sur la crise réticulocytaire chez l'animal normal..	101
B) Choix de l'animal.....	102

